

WASHINGTON PIRES

**Os ajustes termorregulatórios induzidos pela  
estimulação colinérgica central durante o exercício  
físico são mediados pelo barorreflexo arterial**

Belo Horizonte

2008

WASHINGTON PIRES

**Os ajustes termorregulatórios induzidos pela  
estimulação colinérgica central durante o exercício  
físico são mediados pelo barorreflexo arterial**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do Esporte – da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Educação Física.

Orientador: Dr. Nilo Resende Viana Lima

BELO HORIZONTE  
2008

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Fisiologia do Exercício (LAFISE), da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional e no Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo, do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Foram concedidos auxílios financeiros pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), da coordenação de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

## **Agradecimentos**

Aos meus pais, Luciano e Inês, pelo carinho, dedicação e apoio em todas as fases da minha vida.

Ao meu irmão Luciano Jr, e às minhas irmãs Luciane e Leylâne pela excelente convivência, companheirismo e incentivo nos momentos difíceis.

Ao Dr. Nilo Resende Viana Lima, pelos cinco anos de ótima convivência, pela preocupação com minha formação acadêmica e por me ensinar que a carreira acadêmica exige dedicação e profissionalismo.

Aos meus amigos, Samuel Penna Wanner, Roberta Borges La guardia e Juliana Guimarães, pela ajuda de todos os dias desde a minha inserção no laboratório, pela amizade e pela contribuição decisiva neste e outros trabalhos.

Aos meus amigos, Milene Malheiros, Roberta Miranda e Francisco Coelho, que chegaram um pouco depois, pela convivência carinhosa e por me ajudarem a realizar este trabalho.

À Dra. Danusa Dias Soares, pela dedicação ao laboratório e pela paciência com seus alunos.

Ao Prof. Dr. Cândido Celso Coimbra, pelo acesso irrestrito ao Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do ICB, pelo incentivo a seguir a carreira acadêmica e pela contribuição nos projetos e artigos.

À Prof. Dra. Umeko Marubayshi, pela convivência sempre alegre, pela contribuição nos trabalhos e pelo incentivo em aprofundar os estudos na fisiologia.

Ao Prof. Dr. Luiz Oswaldo Carneiro Rodrigues, pela ajuda na análise e discussão deste e de outros trabalhos realizados no laboratório.

Aos meus amigos do grupo estudos para a prova do mestrado, Leonardo, Edson, Rodrigo e Cláudio, pela perseverança.

À Dra. Andréa Siqueira Haibara, por me ensinar a técnica de desnervação sino-aórtica.

Ao Daniel Carvalho, por me ensinar a fazer o teste da sensibilidade do barorreflexo e pela preparação das drogas vasoativas.

Ao André Pimenta, pelo auxílio na preparação de soluções utilizadas no estudo.

Aos meus companheiros do LAFISE, Letícia, Michele, Bernardo, Alison, Jacqueline, Débora, Haylander, Luiz Alexandre, Reinaldo, Flávio, João Paulo, Aline, Thiago, Lucas, João Batista, Kênia, Luciana Madeira, Renata, Vinícius e Ana Cláudia, pela convivência.

## RESUMO

O objetivo do presente estudo foi verificar se os ajustes termorregulatórios induzidos pela estimulação colinérgica central durante o exercício físico são mediados pelo barorreflexo arterial. Foram utilizados ratos Wistar (250-350 g) com implante de cânula guia no ventrículo cerebral lateral e submetidos à desnervação sino-aórtica crônica (DSA) ou a cirurgia sham como controle. A pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) foram medidas por meio de um cateter implantado na aorta ascendente, e um sensor implantado na cavidade abdominal foi usado para o registro da temperatura corporal interna ( $T_i$ ). A temperatura da pele da cauda ( $T_c$ ) foi medida por meio de um termossensor afixado nesta. Imediatamente antes do início do exercício (correr a 18m/min e 5% de inclinação até a fadiga) foi realizada uma injeção icv de fisostigmina ( $10 \times 10^{-3}M$ ) ou de salina (SAL; NaCl 0,15M). Durante o exercício, a injeção de FIS aumentou a PAM ( $139 \pm 2$  mmHg FIS-SHAM vs  $124 \pm 3$  mmHg SAL-SHAM,  $P < 0,05$ ), a  $T_c$  ( $30,8 \pm 6$  °C FIS-SHAM vs  $28,0 \pm 5$  °C SAL-SHAM,  $P < 0,05$ ) e atenuou os aumentos da FC ( $413 \pm 41$  bpm FIS-SHAM vs  $516 \pm 7$  bpm SAL-SHAM,  $P < 0,05$ ) e  $T_i$  ( $37,9 \pm 0,6$  °C FIS-SHAM vs  $38,6 \pm 1,0$  °C SAL-SHAM;  $P < 0,05$ ). No grupo DSA a injeção icv de FIS aumentou a PAM ( $167 \pm 12$  mmHg FIS-DSA vs  $126 \pm 4$  mmHg SAL-DSA;  $P < 0,05$ ) e não alterou a FC,  $T_c$  e  $T_i$ . Os ajustes termorregulatórios induzidos pela estimulação colinérgica central durante o exercício são mediados pelos barorreceptores arteriais.

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate if the effects of central cholinergic receptors stimulation on thermoregulation, in untrained rats during exercise, is mediated by arterial baroreceptors. The animals were anesthetized and fitted with cannulae into the lateral cerebral ventricle. The rats were allowed to recover from surgery and subsequently submitted to sinoaortic denervation (Sad) or sham surgery. After recovery the animals were submitted to a new surgical procedure, and a polyethylene catheter was implanted into the ascendant aorta and a thermal sensor into the abdominal cavity. On the day of experiments, tail skin temperature ( $T_{\text{tail}}$ ), intraperitoneal temperature (Tb) and pulsatile arterial pressure were measured after the injection of 2  $\mu\text{L}$  of  $10 \times 10^{-3}$  M physostigmine (Phy) or 0.15 M NaCl solution (Sal) into the cerebral ventricle. During exercise, Phy-treated rats had a higher increase in mean blood pressure ( $139 \pm 2$  mmHg Phy-sham vs  $124 \pm 3$  mmHg Sal-sham;  $P < 0.05$ ) and higher  $T_{\text{tail}}$  ( $30,8 \pm 6$  °C Phy-sham vs  $28,0 \pm 5$  °C Sal-sham;  $P < 0.05$ ). In addition, Phy injection attenuated the exercise-induced increase in heart rate ( $413 \pm 41$  bpm Phy-sham vs  $516 \pm 7$  bpm Sal-sham;  $P < 0.05$ ) and Tb ( $37,9 \pm 0,6$  °C Phy-sham vs  $38,6 \pm 1,0$  °C Sal-sham;  $P < 0.05$ ) compared with controls. In sinoaortic denervated rats Phy injection increase blood pressure ( $167 \pm 12$  mmHg Phy-Sad vs  $126 \pm 4$  mmHg Sal-Sad), however heart rate,  $T_{\text{tail}}$  and Tb responses not were different compared Sal injection. We conclude that the thermoregulatory adjustments induced by central cholinergic stimulation during exercise are mediate by arterial baroreflex.

# SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>2. OBJETIVO.....</b>	<b>22</b>
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>23</b>
3.1 <i>Animais.....</i>	23
3.2 <i>Cuidados éticos.....</i>	23
3.3 <i>Delineamento experimental.....</i>	23
3.4 <i>Procedimentos cirúrgicos.....</i>	24
3.4.1 <i>Desnervação dos barorreceptores aórticos e carotídeos (DSA)....</i>	24
3.4.2 <i>Implante de cânula guia no ventrículo cerebral lateral direito.....</i>	25
3.4.3 <i>Implante de cateter na aorta ascendente.....</i>	26
3.4.4 <i>Implante de sensor de temperatura.....</i>	27
3.4.5 <i>Confirmação da DSA.....</i>	27
3.5 <i>Familiarização ao exercício em esteira rolante.....</i>	28
3.6 <i>Exercício e determinação da fadiga.....</i>	29
3.7 <i>Injeção no ventrículo cerebral lateral direito.....</i>	29
3.8 <i>Protocolo experimental.....</i>	30
3.9 <i>Medida dos parâmetros cardiovasculares.....</i>	32
3.9.1 <i>Pressão pulsátil.....</i>	32
3.10 <i>Medida dos parâmetros termorregulatórios.....</i>	32
3.10.1 <i>Temperatura da pele da cauda.....</i>	32
3.10.2 <i>Temperatura intraperitoneal.....</i>	33
3.11 <i>Tempo total de exercício.....</i>	33
3.12 <i>Medida das variáveis de controle.....</i>	34
3.12.1 <i>Massa corporal dos animais.....</i>	34
3.12.3 <i>Temperatura ambiente.....</i>	34
3.12.4 <i>Temperatura no interior da esteira.....</i>	34
3.13 <i>Variáveis calculadas.....</i>	34
3.13.1 <i>Taxa de elevação da temperatura interna.....</i>	34
3.14 <i>Eutanásia dos animais.....</i>	35



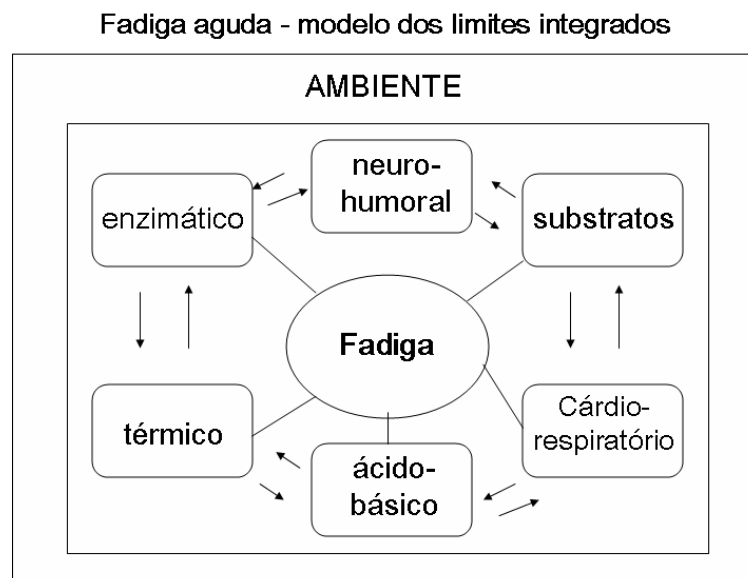
3.15 <i>Análise estatística</i> .....	35
<b>4. RESULTADOS</b> .....	<b>37</b>
4.1 <i>Efeitos da injeção icv de fisostigmina, em três diferentes concentrações, sobre os ajustes cardiovasculares e termorregulatórios induzidos pelo exercício</i> .....	37
4.1.1 <i>Tempo total de Exercício</i> .....	37
4.1.2 <i>Parâmetros cardiovasculares</i> .....	39
4.1.3 <i>Parâmetros termorregulatórios</i> .....	44
4.1.4 <i>Correlações entre as respostas cardiovasculares e a temperatura da pele da cauda durante o exercício</i> .....	49
4.2 <i>Tempo total de Exercício em ratos submetidos à DSA ou cirurgia sham</i> .....	51
4.2.1 <i>Parâmetros cardiovasculares em ratos submetidos à DSA ou à cirurgia sham</i> .....	52
4.2.3 <i>Parâmetros termorregulatórios em ratos submetidos à DSA ou cirurgia sham</i> .....	57
4.2.4 <i>Teste da sensibilidade barorreflexa (segunda situação experimental)</i> .....	61
4.3 <i>Efeitos da injeção icv de fisostigmina sobre os parâmetros cardiovasculares em ratos submetidos à DSA ou cirurgia sham</i> .....	62
4.3.2 <i>Teste da sensibilidade barorreflexa (terceira situação experimental)</i> .....	64
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	<b>76</b>
5.1 <i>Efeitos dose-dependentes da estimulação colinérgica central sobre a termorregulação durante o exercício</i> .....	76

<i>5.2 Desnervação sino-aórtica crônica como metodologia de estudo dos efeitos da estimulação colinérgica central sobre a termorregulação durante o exercício .....</i>	<b>83</b>
<i>5.3 Mediação barorreflexa da dissipação de calor induzida pela estimulação colinérgica central.....</i>	<b>86</b>
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>92</b>
<b>7. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>93</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A fadiga aguda é a decisão voluntária do indivíduo de interromper ou reduzir a intensidade de um exercício físico e representa um mecanismo de proteção, o qual evita que algum dos sistemas fisiológicos atinja seu limite (42, 59).

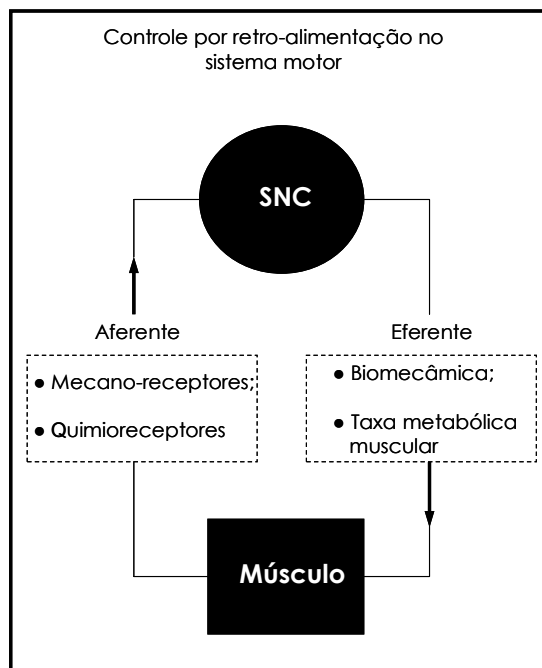
Em função das características do ambiente no qual o exercício é realizado, da sua intensidade e duração, os estímulos aferentes provenientes dos receptores periféricos (os quais sinalizam a intensidade das contrações musculares, a perfusão tecidual, alterações na temperatura corporal, a composição química do sangue, a disponibilidade de substratos, dentre outros) são permanentemente processados no sistema nervoso central (SNC) de acordo com a intensidade relativa do mesmo (59) e determinam a atividade da via eferente que parte dos centros motores cerebrais até os músculos em contração. (Figura 1)



*Rodrigues e Silami-Garcia (1998)*

**Figura 1.** Diagrama mostrando os principais sistemas fisiológicos envolvidos no modelo integrado e multifatorial de fadiga. As setas indicam as interferências recíprocas entre todos os sistemas e a fadiga.

A fadiga não é determinada por um fator isolado, mas sim pela interação dos ajustes ao exercício no SNC (*Figura 2*).



*Adap. de Lambert EV, Gibson SC, Noakes TD, 2005.*

**Figura 2.** Integração dos ajustes periféricos ao exercício no sistema nervoso central.

Este conceito sugere que em diferentes situações de exercício, diferentes sistemas fisiológicos podem determinar o desempenho. Assim o estudo da fadiga envolve a análise de fatores como o suprimento e depleção dos substratos energéticos, ajuste neural do sistema cardiovascular, recrutamento muscular e a economia do movimento (40, 42), sendo que a relevância de cada fator para o desempenho depende da intensidade e duração do exercício realizado. Durante o exercício sub-máximo prolongado, existem dados mostrando que dentre outros, dois fatores influenciando a determinação da fadiga são, a capacidade do sistema cardiovascular em manter o fluxo sangüíneo muscular e coronariano adequado à intensidade do

esforço e do sistema termorregulatório em dissipar o calor produzido, evitando que a temperatura corporal atinja valores elevados (3, 4, 5, 8, 13, 16, 41, 43, 72).

Durante o exercício físico o sistema nervoso autônomo simpático (SNAS) é ajustado em função da maior necessidade de perfusão sangüínea nos tecidos corporais e da necessidade de dissipar o calor produzido nos músculos ativos. Esta modulação do SNAS durante o exercício aumenta simultaneamente a pressão arterial e a freqüência cardíaca e estes ajustes cardiovasculares integrados fornecem uma perfusão sangüínea adequada nos músculos e aumentam a circulação nos vasos cutâneos, permitindo assim a manutenção da atividade física. Os ajustes autonômicos ao exercício ocorrem paralelamente à ativação dos centros motores (comando central) e a magnitude destes ajustes é determinada pela intensidade relativa do exercício a ser realizado (76). A regulação do SNAS durante o exercício físico ocorre por meio da modulação da neurotransmissão em núcleos cerebrais específicos localizados predominantemente na região do hipotálamo e do bulbo e por mecanismos periféricos envolvendo a atividade aferente dos mecanorreceptores localizados nas paredes arteriais, termorreceptores localizados na pele e vísceras e por mecano- e metaborreceptores presentes nos músculos esqueléticos (retro-alimentação) (39, 76). Para suprir a maior demanda energética nos músculos durante o exercício físico, ocorre aumento da atividade simpática para o coração e vasos sangüíneos viscerais, aumentando o débito cardíaco e direcionando mais sangue para os músculos e para a pele (48, 53, 64). Nos músculos ativos é bem estabelecido que o fluxo sangüíneo é regulado pela interação entre o aumento da atividade simpática e

dos fatores locais como o aumento da temperatura, acidez e concentração de  $\text{CO}_2$ . Entretanto, a regulação simpática do fluxo sanguíneo cutâneo durante o exercício ainda não é totalmente conhecida. É importante enfatizar que a regulação do fluxo sanguíneo neste território vascular é determinada pela interação entre os sistemas cardiovascular e termorregulatório, portanto a compreensão da regulação integrada do SNAS em função destes dois sistemas é fundamental.

Estudos prévios têm mostrado que a acetilcolina cerebral está envolvida na regulação do SNAS sobre o tônus vasomotor da cauda (74). Durante o exercício a 80% do  $\text{VO}_{2\text{max}}$ , o bloqueio dos receptores colinérgicos do núcleo ventromedial do hipotálamo (HVM), realizado por meio da injeção bilateral de metilatropina, inibe a dissipação de calor através da vasodilatação da cauda de ratos (principal mecanismo de dissipação de calor durante o exercício [64, 77], uma vez que a sudorese não tem função termoregulatória nessa espécie). Essa menor vasodilatação da cauda levou a uma maior taxa de acúmulo de calor corporal e antecipação da fadiga (74). Simultaneamente à inibição da dissipação de calor, o bloqueio colinérgico no HVM também modificou o perfil temporal dos ajustes cardiovasculares antecipando o pico de pressão arterial média (73). Em outro estudo do nosso laboratório, a estimulação colinérgica central realizada por meio da injeção intracerebroventricular (icv) do agonista colinérgico fisostigmina durante o exercício levou a maior resposta de pressão arterial ao exercício e maior temperatura da pele da cauda resultando em menor acúmulo de calor corporal (50). A fisostigmina aumenta o tempo de ação da acetilcolina quando liberada na fenda sináptica uma vez que inibe a atividade da acetilcolinesterase. Mesmo com uma menor taxa de elevação da

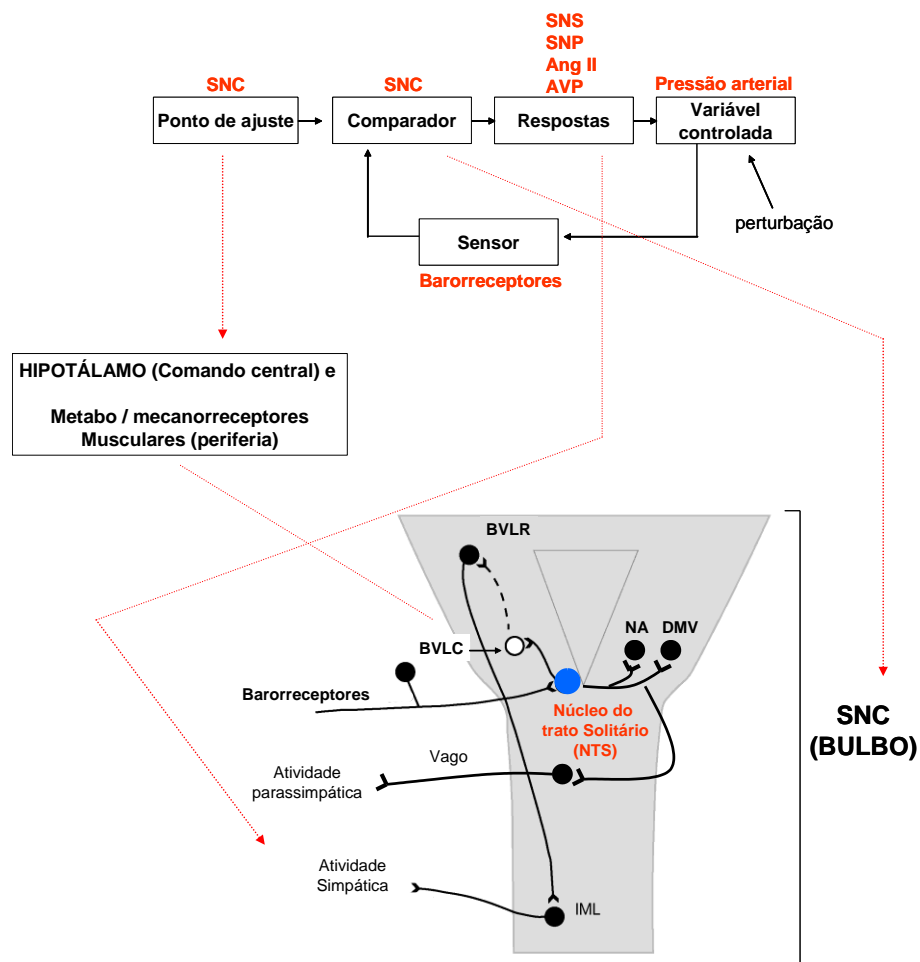
temperatura interna, o tempo total de exercício após a injeção central de fisostigmina não foi diferente do controle, de acordo com o modelo dos limites integrados. Foi encontrada também correlação positiva entre o aumento da pressão arterial e a temperatura da pele, evidenciando a regulação integrada da termorregulação e perfusão tecidual durante o exercício. Entretanto os mecanismos pelos quais esta integração ocorre ainda não foram demonstrados.

Durante o exercício o SNAS ajusta o sistema cardiovascular de forma que a pressão que perfunde os tecidos seja mantida em uma faixa adequada (ponto de ajuste), que é determinada centralmente em função da intensidade do exercício. Portanto toda a regulação neural do sistema cardiovascular que envolve a regulação da contratilidade cardíaca, cronotropismo e o grau de constrição nos grandes leitos vasculares ocorre para manter a pressão arterial média em limites adequados (variável controlada). Esta regulação ocorre por mecanismos que envolvem receptores periféricos sensíveis às alterações de pressão e do metabolismo nos músculos que têm sua atividade integrada com núcleos cerebrais os quais controlam a atividade do SNAS (14, 60, 76).

O barorreflexo arterial é o principal mecanismo de regulação aguda da pressão arterial (19, 61) e funciona como um mecanismo de retro-alimentação (*Figura 3*).

Se a pressão arterial desvia da faixa de pressão arterial desejada para a manutenção do fluxo sanguíneo tecidual, os barorreceptores localizados na aorta e nas carótidas são estimulados. Estes receptores são sensíveis às alterações mecânicas nas paredes dos vasos exercidas por aumentos ou diminuições na pressão arterial. Os potenciais de ação desencadeados pela

estimulação dos barorreceptores são carregados ao sistema nervoso central (SNC) por meio do nervo vago e nervo glossofaríngeo. O principal local de integração da função barorreflexa é o núcleo do trato solitário (NTS) localizado no bulbo. Este núcleo funciona como um comparador, onde o valor de pressão arterial adequado é contrastado com o valor real informado pelos barorreceptores.



*Adaptado de Guyenet PG, 2006.*

**Figura 3.** Mecanismo barorreflexo de regulação aguda da pressão arterial.

Do NTS existem projeções para a região ventrolateral caudal e desta para a região ventrolateral rostral do bulbo, de onde partem projeções para a coluna intermediolateral da medula espinhal. Este é o principal local de origem das fibras simpáticas na medula espinhal. Do NTS existem também projeções

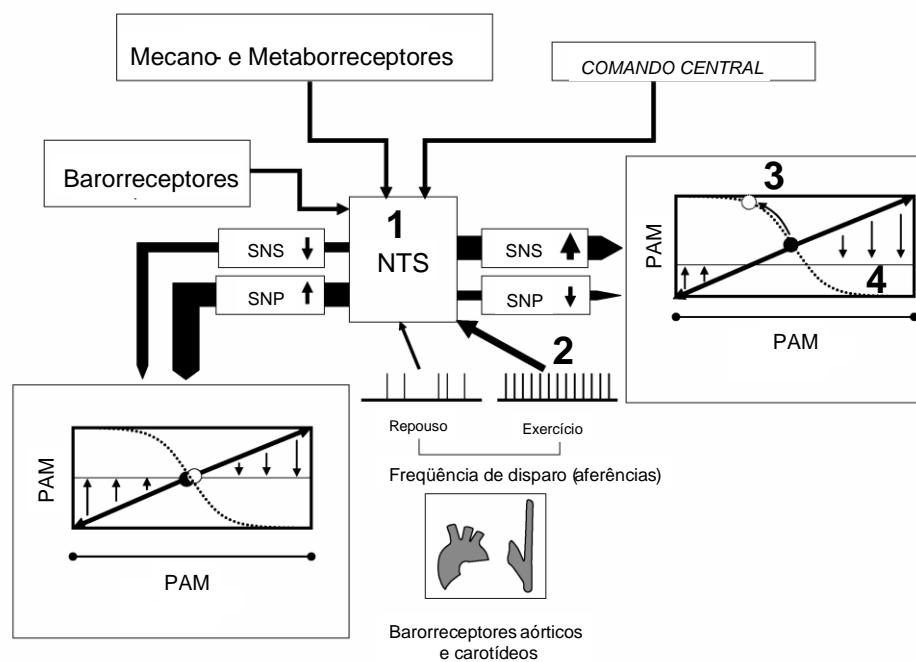


para dois outros núcleos neuronais, núcleo ambíguo (NA) e dorso motor do vago (DMV), que modulam a divisão parassimpática do SNA. A principal eferência do reflexo é a modulação da atividade dos sistemas simpático e parassimpático para o coração e vasos sanguíneos (61).

O aumento da atividade simpática aumenta a frequência cardíaca pela inervação direta no nodo sinusal e também aumenta a força de contração do miocárdio por meio da inervação direta do miocárdio. As artérias dos leitos renais, esplâncnicos e musculares são inervadas pelo simpático, sendo que o aumento da atividade do SNAS provoca vasoconstrição destes vasos e a diminuição da atividade provoca vasodilatação. Em repouso, o aumento de pressão arterial é contraposto por bradicardia e dilatação arteriolar fazendo com que a pressão arterial retorne ao valor do ponto de ajuste (61). Entretanto, durante o exercício a pressão arterial e a frequência cardíaca aumentam simultaneamente e isso atraiu o foco de pesquisadores para a compreensão da participação do barorreflexo na regulação da pressão arterial durante o exercício (21, 25). A partir desses estudos, foi bem estabelecido que o ponto de operação do reflexo é reajustado durante o exercício a um maior valor de pressão de perfusão, permitindo o aumento simultâneo da pressão arterial e frequência cardíaca (10, 61) (*Figura 4*).

O reajuste central do barorreflexo durante o exercício ocorre no NTS. O principal determinante deste reajuste é o controle por mecanismos de pré-alimentação a partir do comando central associado a um controle por retro-alimentação proveniente do reflexo pressor do exercício bem como dos barorreceptores cardiopulmonares, os quais sinalizam o volume central de sangue (76). O ponto de operação do reflexo é re-estabelecido de acordo com

a intensidade do exercício, quanto maior a intensidade o ponto de operação é reajustado para um maior valor de pressão arterial. Contudo o reflexo continua funcionando e se a pressão sanguínea aumenta acima deste limite, o aumento é contraposto pelo barorreflexo, ocorrendo atenuação do aumento da frequência cardíaca induzido pelo exercício (46, 61).



*Adaptado de Raven, PB et al., 2005.*

**Figura 4.** Um modelo hipotético da integração neural associada com o reajuste do braço vasomotor do barorreflexo arterial que ocorre do repouso para o exercício. 1) O principal determinante deste reajuste é o controle por pré-alimentação que ocorre a partir do comando central ativado, com o controle modulatório por retro-alimentação a partir do reflexo pressor do exercício, bem como dos estímulos provenientes dos barorreceptores cardiopulmonares, os quais sinalizam o volume central de sangue. 2) O reajuste central restabelece a faixa de operação do reflexo em função da intensidade de exercício, por meio do aumento da atividade neural aferente dos barorreceptores arteriais, que é refletido pelo aumento na pressão arterial. 3) Este reajuste e deslocamento do ponto de operação (○) para longe do ponto central (●) para um posição de ganho reduzido resulta da integração dentro do núcleo do trato solitário (NTS) e subsequente modulação do controle neural simpático e parassimpático para a vasculatura e coração, respectivamente. 4) O deslocamento do ponto de operação coloca o barorreflexo em um posição ótima para contrapor ao estímulo hipertensivo durante o exercício, como indicado pelas setas dentro das caixas. PAM, pressão arterial média; SNS, atividade simpática; SNP, atividade parassimpática.

O barorreflexo arterial é, portanto um mecanismo reajustado durante a atividade física para permitir o aumento da frequência cardíaca e pressão arterial.

A temperatura corporal interna é a resultante do balanço entre a produção e a dissipação de calor. A regulação da temperatura ocorre por meio da modulação da atividade de núcleos hipotalâmicos (39), os quais funcionam de forma integrada como um termostato ajustado para manter a temperatura corporal dentro de limites adequados de funcionamento das vias metabólicas (17). Estes núcleos ajustam a taxa de transferência de calor do interior do corpo por meio da modulação do SNAS para os vasos da pele, modulando o fluxo sanguíneo periférico (48, 64). Estudos prévios têm mostrado que a modulação da neurotransmissão colinérgica central é um dos mecanismos pelos o sistema termorregulatório é ajustado durante o exercício. O estudo de Rodrigues et al. (56) mostrou que a estimulação dos neurônios colinérgicos centrais realizada por meio da injeção intracerebroventricular (icv) de fisostigmina atenuou o aumento da temperatura corporal de ratos correndo a 20m/min em esteira rolante até a fadiga. Como a estimulação colinérgica não alterou o consumo de oxigênio (índice da produção de calor) durante o exercício foi concluído que a estimulação colinérgica facilitou a dissipação. Para testar a hipótese que a estimulação colinérgica aumenta a dissipação de calor Pires et al. (50) avaliaram o efeito da injeção icv de fisostigmina sobre a temperatura da pele da cauda de ratos em repouso e durante o exercício. Neste estudo foi demonstrado de fato que a injeção icv de fisostigmina aumenta a temperatura da pele da cauda de ratos em repouso quanto durante

o exercício. É bem estabelecido que a injeção icv de fisostigmina e outros agonistas colinérgicos provoca um pronunciado aumento de pressão arterial e alterações de frequência cardíaca (1, 26). Portanto, no estudo de Pires et al. (50) estas variáveis cardiovasculares foram medidas simultaneamente às medidas das variáveis termorregulatórias. A injeção icv de fisostigmina provocou aumento exacerbado da pressão arterial em resposta ao exercício que foi seguido por atenuação do aumento da frequência cardíaca. Simultaneamente, a injeção de fisostigmina aumentou da temperatura da pele da cauda, resultando em atenuação do aumento da temperatura corporal interna. O mesmo padrão temporal entre a resposta cardiovascular e termorregulatória ocorreu durante o repouso. A menor variação da frequência cardíaca durante o exercício e o maior fluxo sanguíneo nos vasos periféricos em resposta a um aumento exacerbado da pressão arterial induzida pela injeção icv de fisostigmina caracteriza uma resposta barorreflexa, o que nos fez hipotetizar que os efeitos da estimulação colinérgica central sobre a termorregulação durante o exercício são mediados pela maior estimulação dos barorreceptores arteriais.

De acordo com essa hipótese Taira (69) mostrou que a injeção icv de neostigmina aumenta a pressão arterial e diminui a frequência cardíaca de ratos em repouso. Para verificar se estas respostas são mediadas pela maior estimulação dos barorreceptores, a estimulação colinérgica central foi realizada em ratos submetidos à desnervação sino-aórtica crônica durante o repouso. De fato, o aumento da pressão arterial nos ratos desnervados foi maior quando comparado aos animais intactos, entretanto a bradicardia foi bloqueada. Existem dados mostrando também a participação dos barorreceptores arteriais

no controle do fluxo sanguíneo da cauda. Em ratos anestesiados, aumentos e diminuições progressivas na pressão sanguínea na região do seio carotídeo (área com grande densidade de barorreceptores) foram acompanhados por diminuições e aumentos na frequência cardíaca. Os momentos onde ocorreram os menores valores da frequência cardíaca foram associados com maiores valores da temperatura da pele da cauda, levando a diminuição da temperatura corporal (78). O'Leary e Jonhson (45) verificaram que diminuições graduadas na pressão arterial de ratos não-anestesiados foram acompanhadas por diminuições graduadas na condutância vascular da cauda. Além disso, Jonhson e Gilbey (20) mostraram que a estimulação do nervo aórtico diminui a atividade simpática para a veia lateral e para a artéria ventral da cauda em ratos anestesiados. Juntos, estes dados mostram que os ajustes termorregulatórios em ratos anestesiados ou ratos em repouso são modulados pelo barorreflexo arterial. Entretanto, até o presente momento não é conhecido se esta modulação ocorre durante o exercício físico.

## **2. OBJETIVO**

Verificar se durante o exercício físico, o barorreflexo arterial participa dos ajustes termorregulatórios induzidos pela estimulação colinérgica central.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Animais**

Foram utilizados ratos Wistar pesando entre 250 e 350 g, provenientes do Centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas - UFMG. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais em uma sala com temperatura ambiente controlada em aproximadamente 26°C, sob um ciclo claro-escuro de 14-10 h (5:00 – 19:00), com acesso a ração granulada (Nuvilab CR-1) e água *ad libitum*.

#### **3.2 Cuidados éticos**

Os procedimentos experimentais realizados neste estudo foram submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA) da Universidade Federal de Minas Gerais. (Protocolos n<sup>os</sup> 97/2006 e 134/2007)

#### **3.3 Delineamento experimental**

Cinqüenta e quatro animais separados em oito grupos distintos foram utilizados para a medida das variáveis. Não houve pré-seleção dos animais. A escolha do número de animais por grupo foi baseada em estudos anteriores de nosso laboratório que utilizaram protocolos experimentais semelhantes aos adotados no presente projeto (50, 52, 65, 74).

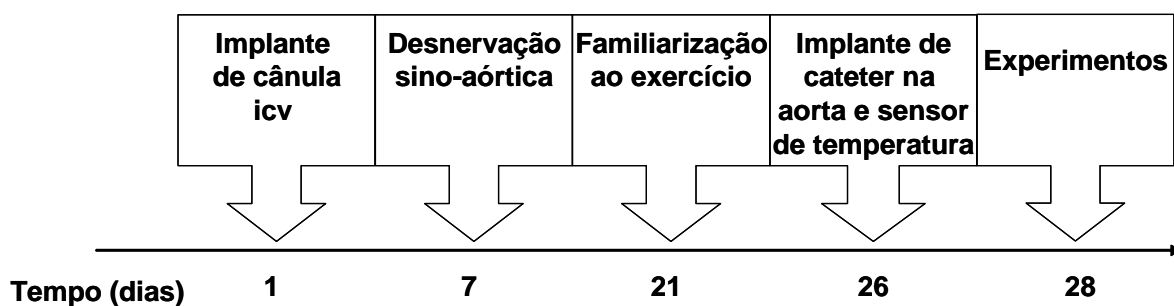
O estudo consistiu da realização de três situações experimentais. Na primeira situação as variáveis cardiovasculares e termorregulatórias foram medidas durante o exercício após a injeção icv de fisostigmina em três diferentes concentrações. A realização desta situação teve por objetivo verificar

se os efeitos da estimulação colinérgica central são dose-dependentes e na seqüência encontrar uma concentração do anti-colinesterásico que provocasse um efeito evidente sobre a termorregulação sem modificar a capacidade do animal em realizar o exercício.

Na segunda situação experimental as variáveis cardiovasculares e termorregulatórias foram medidas em ratos submetidos à desnervação sino-aórtica crônica e em ratos submetidos à cirurgia fictícia como controle (CON). A realização desta situação experimental teve como objetivo avaliar os efeitos da atividade aferente dos barorreceptores sobre os ajustes termorregutórios induzido pelo exercício.

Na terceira situação experimental os ratos submetidos à desnervação sino-aórtica ou cirurgia fictícia foram submetidos à injeção icv de fisostigmina na concentração de  $10 \times 10^{-3}$  M e ao exercício. A concentração de fisostigmina foi escolhida a partir dos experimentos realizada na primeira situação experimental. A realização desta terceira situação destinou-se ao objetivo central do presente estudo, avaliar se os efeitos da estimulação colinérgica central sobre a termorregulação são mediados pelo barorreflexo.

### 3.4 Procedimentos cirúrgicos



**Figura 4.** Linha temporal representando a seqüência da realização dos procedimentos cirúrgicos.



### **3.4.1** *Implante de cânula guia no ventrículo cerebral lateral direito (icv)*

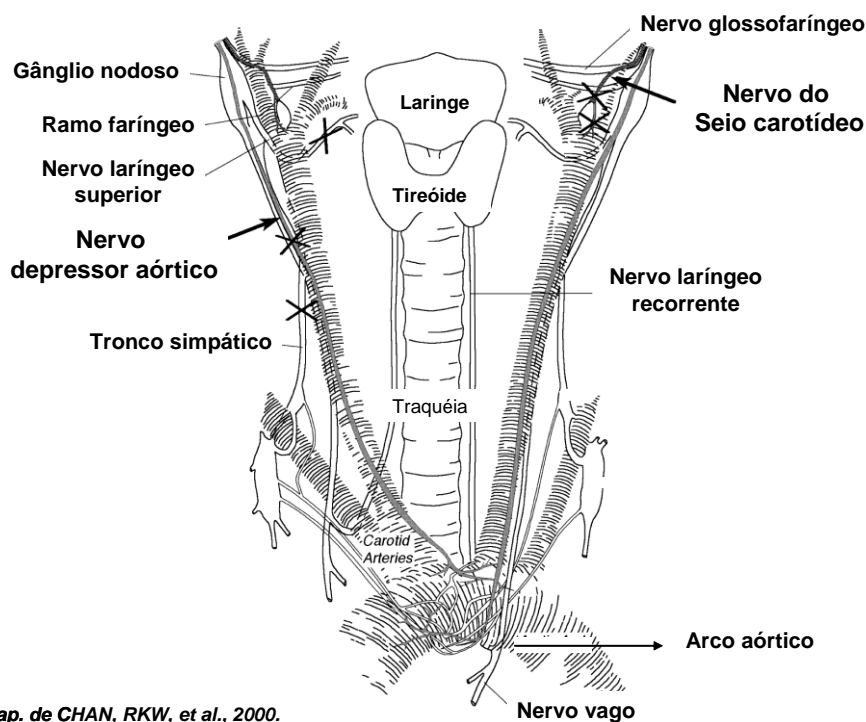
Para realizar a estimulação dos neurônios colinérgicos centrais foi implantada uma cânula guia no ventrículo cerebral lateral direito (33, 34, 50, 52). A cânula guia foi fabricada a partir de uma agulha (0,70x25 mm, 22G, BD Indústrias Cirúrgicas Ltda, PR, Brasil) com comprimento de 16 mm. Os animais foram anestesiados com uma mistura de Ketamina e Xilazina e foram fixados a um esterotáxico para animais de pequeno porte (Insight Equipamentos – modelo ETX3/99, SP, Brasil). Após depilação e assepsia da porção superior da cabeça, foi realizada uma incisão longitudinal da pele e do tecido subcutâneo. Em seguida, o periósteo foi afastado com o auxílio de xilocaína com vasoconstritor (solução de cloridrato de lidocaína 2% e de adrenalina 1:200000). Foram então realizados, por meio de uma broca odontológica, (Maxi-Oto, Brasil) dois furos no crânio do animal para a fixação de parafusos de relojoeiro. O implante da cânula guia no ventrículo cerebral lateral direito foi realizado de acordo com as coordenadas do Atlas de De Groot (1959): 1,5 mm posterior ao bregma (ântero-posterior); 2,5 mm a partir da linha mediana (látero-lateral); 3,0 mm a partir da dura-máter. A cânula guia foi ancorada aos parafusos e fixada à calota craniana por meio de cimento odontológico auto-polimerizável (Dental Vip, SP, Brasil). A cânula guia foi conectada a uma pipeta contendo solução fisiológica (NaCl 0,9%) por meio de um tudo de polietileno (PE50, Portex Limited, Inglaterra). O correto posicionamento da cânula guia no ventrículo lateral foi verificado pela queda na coluna de líquido dentro da pipeta, técnica desenvolvida por Antunes-Rodrigues e Mccann em 1970. Esta técnica permite confirmar o correto posicionamento da cânula guia no momento da cirurgia. Entretanto, em nosso estudo anterior (50), para garantir que a

técnica de Antunes-Rodrigues e Mccann foi executada corretamente, nós realizamos a verificação histológica do posicionamento da cânula guia em um grupo sete animais. Em cem por cento dos animais a cânula guia foi posicionada corretamente. No presente estudo, o implante de cânula icv foi realizado nos grupos da primeira e terceira situações experimentais.

### **3.4.2 *Desnervação crônica dos barorreceptores aórticos e carotídeos (DSA)***

Sob efeito anestésico de uma mistura de Ketamina (116 mg/kg de massa corporal, i.p.) e Xilazina (5,75 mg/kg de massa corporal, i.p.), os animais foram submetidos à DSA segundo o método descrito por Krieger (24). Foi realizada uma incisão na linha média na região ventral do pescoço e os músculos esternocleidomastóideos e omoióideos foram rebatidos lateralmente para expor as artérias carótidas comuns. Os gânglios simpáticos cervicais superiores foram seccionados bilateralmente e os nervos laríngeos superiores também foram seccionados para eliminar qualquer filamento remanescente do nervo aórtico. As fibras e tecidos conectivos ao redor da bifurcação das artérias carótidas foram retirados e ambos os lados foram pincelados com uma pequena quantidade de fenol a 10% dissolvido em etanol absoluto. O fenol é uma substância neurotóxica que destrói os barorreceptores da região pincelada (*Figura 5*).

Após a cirurgia, os animais receberam injeções intramusculares de pentabiótico veterinário (Fort Dodge., Campinas, SP, Brazil) (24000 UI no volume de 0,1 mL por pata traseira) com o objetivo de prevenir infecções e uma injeção subcutânea de Banamine (1,1 mg/kg de massa corporal) como analgésico.



Adap. de CHAN, RKW, et al., 2000.

**Figura 5.** Diagrama esquemático mostrando a localização dos nervos do seio carotídeo e nervo depressor aórtico e os locais nos quais eles são seccionados.

### 3.4.3 Implante de cateter na aorta ascendente

Para o registro da pressão de pulsátil foi implantado um cateter na aorta ascendente via artéria carótida esquerda. O cateter utilizado foi confeccionado com tubos de polietileno de diâmetros (PE50 e PE10) e comprimentos diferentes (7 e 4 cm) soldados por aquecimento. O cateter foi preenchido com salina heparinizada, constituída de 0,1 mL de heparina sódica 25000UI (Liquemine®, Roche, RJ, Brasil) em 20 mL de salina, para evitar obstrução da sua luz e uma de suas extremidades foi ocluída com um pino de aço. Para o implante do cateter os animais foram anestesiados com uma mistura de Ketamina (116 mg/kg de massa corporal, i.p.) e Xilazina (5,75 mg/kg de massa corporal, i.p.). Após a depilação da região do pescoço foi feita uma incisão de

aproximadamente 0,7 cm neste local, possibilitando o acesso à artéria carótida esquerda. Foi feita uma incisão na artéria e o cateter foi inserido na aorta ascendente (3 cm a partir da incisão). Após a depilação da região cervical dorsal do animal o cateter foi exteriorizado na região cervical e fixado à pele por meio de um fio de sutura, permitindo livre movimentação do animal (50). O cateter foi lavado e preenchido diariamente com salina heparinizada.

#### **3.4.4 *Implante de sensor para a medida da temperatura intraperitoneal***

Imediatamente após o implante do cateter na aorta, foi realizado o implante de um sensor de temperatura na cavidade peritoneal (Mini-Mitter, Sunriver, OR, EUA, série 3000 VMFH, massa de 2,2 g) para medida da temperatura corporal interna por telemetria. O sensor foi inserido na cavidade peritoneal por meio de uma incisão ventral de aproximadamente 2 cm, seguida de outra incisão na linha Alba do músculo reto abdominal, possibilitando o acesso à cavidade peritoneal. Após a inserção do sensor, o músculo abdominal e a pele foram suturados (22, 28, 29).

#### **3.4.5 *Confirmação da DSA***

Para a confirmação da desnervação sino-aórtica crônica, a sensibilidade do barorreflexo foi testada por meio da infusão intra-venosa de substâncias vasoativas. Para isso, ao término dos experimentos, os animais foram anestesiados com uma mistura de Ketamina e Xilazina e foi implantado um cateter na veia jugular direita para a infusão das drogas: 1- 2,5 µg/mL de fenilefrina (agonista  $\alpha$ -adrenérgico) em 0,1 mL de salina fisiológica e seguida da infusão de 2,5- 5 µg/mL de nitroprussiato de sódio (doador de óxido nítrico)

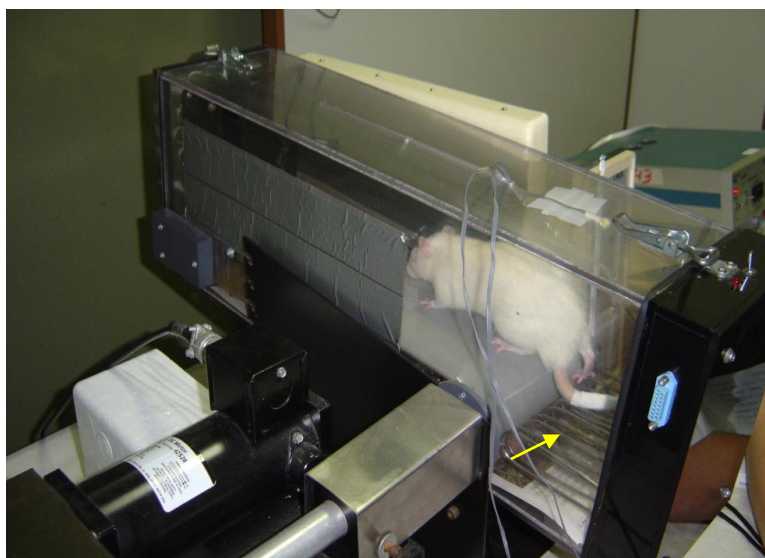
em 0,1 mL de salina. A infusão i.v. de fenilefrina e nitroprussiato de sódio nas concentrações acima mencionadas provocam respectivamente aumentos e diminuições de pressão arterial acima de 25 mmHg em ratos intactos (2, 9, 37, 70), causando bradicardia e taquicardia acima de 50 batimentos por minuto. Foram considerados desnervados os ratos nos quais ocorreu uma atenuação maior que 80% das repostas reflexas da frequência cardíaca induzidas por alterações da pressão arterial em resposta a infusão das drogas vasoativas. Esta é uma resposta esperada em ratos submetidos à DSA segundo Franchini e Krieger (12). A efetividade do procedimento de desnervação no presente estudo foi de setenta e cinco por cento.

### ***3.5 Familiarização ao exercício na esteira rolante***

Após a recuperação da DSA, os animais foram familiarizados a correr em uma esteira rolante para pequenos animais (Columbus Instruments, OH, EUA, Modular Treadmill) a uma velocidade constante de 18 m/min e inclinação de 5%, 5 minutos por dia. A familiarização foi realizada durante 5 dias consecutivos e os ratos foram estimulados a correr por meio de uma corrente elétrica leve sempre que tocavam ou permaneciam sobre a grade de estímulo elétrico (0,5 mA; 0,5 mV) localizada na parte posterior da esteira. Essa intensidade de exercício corresponde a aproximadamente 65%  $VO_{2max}$  (68). A familiarização foi realizada em um ambiente com temperatura seca de 26° C e umidade relativa do ar de 60%. Durante o período de familiarização, os ratos correram com um termossensor (Yellow Spring Instruments - YSI) afixado na cauda. O objetivo da familiarização foi mostrar aos animais em qual direção correr e que estes se adaptassem ao ambiente do experimento.

### 3.6 Exercício Físico e determinação da fadiga

No dia dos experimentos, os animais foram submetidos a um exercício contínuo com velocidade constante de 18m/min e inclinação de 5%, mesma intensidade que aquela utilizada durante a familiarização. O critério para determinar a fadiga foi a permanência do animal sobre a grade de estímulo elétrico por mais de 10 segundos, o que demonstra a incapacidade de manter a intensidade de exercício pré-estabelecida. Este critério de determinação da fadiga tem sido adotado em estudos do nosso laboratório (33, 34, 50, 66, 67, 74).



**Figura 7.** Esteira para pequenos animais. A seta amarela mostra a grade de estímulo elétrico.

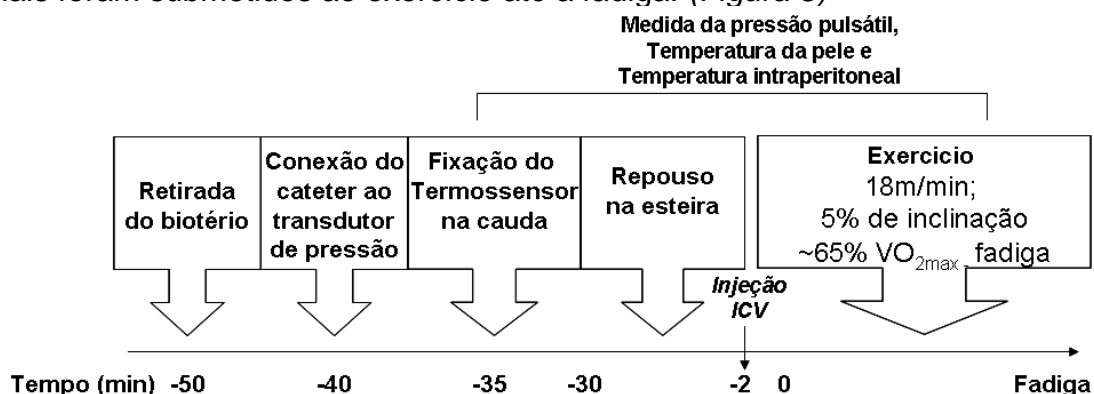
### 3.7 Injeção no ventrículo cerebral lateral direito

A estimulação dos receptores colinérgicos foi realizada por meio da injeção de 2  $\mu$ L de solução de fisostigmina ( $5 \times 10^{-3}$  M [Grupo Fis 5],  $10 \times 10^{-3}$  M [Grupo Fis 10] ou  $40 \times 10^{-3}$  M [Grupo Fis 40]) (Sigma, St. Louis, EUA) e o controle foi realizado por meio da injeção de NaCl (0,15 M [Grupo Sal]). As

injeções foram realizadas usando-se uma seringa (Hamilton Company, Nevada, EUA) de 5  $\mu$ L conectada com PE10 a uma agulha injetora com 16,3 mm de comprimento. A injeção foi realizada durante 2 minutos para evitar o aumento da pressão hidrostática.

### 3.8 Protocolo experimental

Nos dias dos experimentos os ratos foram retirados do biotério, transportados em gaiolas individuais e pesados em uma balança eletrônica (Filizola) com precisão de 0,5 g. Após esse procedimento, os animais foram levados à câmara ambiental e uma conexão de polietileno (PE50) preenchida com salina heparinizada foi conectada ao cateter arterial. A outra extremidade da conexão foi conectada ao transdutor de pressão, possibilitando a aquisição dos dados. Na seqüência foi fixado um termossensor na base cauda do animal e este foi colocado dentro da caixa da esteira para o registro das variáveis durante pelo menos 30 minutos em repouso, tempo necessário para a obtenção dos valores basais das variáveis a serem medidas. O registro da temperatura interna foi realizado a cada minuto, sendo que a placa receptora dos sinais provenientes do sensor de temperatura inserido no abdômen do animal foi colocada ao lado da esteira. Terminado o período de repouso, os animais foram submetidos ao exercício até a fadiga. (Figura 8)



**Figura 8.** Linha temporal representativa dos experimentos.

Obs.: Nas três situações experimentais o mesmo protocolo experimental foi adotado, entretanto na segunda situação experimental não houve a injeção icv.

### **3.9** *Medida dos parâmetros cardiovasculares*

#### **3.9.1** *Pressão arterial pulsátil*

A pressão arterial pulsátil foi medida continuamente durante o exercício por meio de do cateter implantado na aorta e conectado ao transdutor de pressão que, por sua vez, foi conectado a um sistema de aquisição de dados (Biopac System Inc., modelo MP100ACE, Santa Bárbara, CA, EUA). O transdutor de pressão foi calibrado previamente a todos os experimentos e foi posicionado ao lado da esteira, na altura do coração do rato. As variáveis cardiovasculares - frequência cardíaca, pressão arterial média, pressão arterial sistólica e pressão arterial diastólica - foram calculadas a partir do registro da pressão arterial pulsátil via software (Acknowledge 37.0).

### **3.10** *Medida dos parâmetros termorregulatórios*

#### **3.10.1** *Temperatura da pele da cauda*

A temperatura da pele da cauda do rato foi medida utilizando-se um termossensor (Yellow Spring Instruments - YSI, Dayton, EUA, modelo 409B) acoplado a um teletermômetro de temperatura (YSI, modelo 400A). O sensor foi posicionado na porção lateral a 2 cm da base da cauda utilizando-se um esparadrapo impermeável. A temperatura da pele da cauda foi utilizada como um índice do fluxo sanguíneo cutâneo (32, 52).



### **3.10.2** *Temperatura intraperitoneal*

Sensores de temperatura (Mini-Mitter, Sunriver, EUA, modelo TR3000 VM-FM), pesando 2,2 g e contendo uma bateria de lítio (3-V lithium), foram utilizados para a medição da temperatura intraperitoneal. Para a calibração dos sensores, estes foram colocados em um Becker preenchido com 50 mL de água a 45° C e, à medida que a temperatura da água diminuía, as frequências emitidas pelo mesmo eram registradas. Quando a diferença da frequência emitida pelo sensor e os valores fornecidos pelo fabricante foi superior a 5%, a calibragem armazenada no software foi alterada.

O sensor de temperatura é um capacitor oscilatório de resistência simples, cujo valor da resistência é dependente da temperatura. A frequência de saída dos pulsos digitais provenientes dos sensores está entre 297 - 713 KHz. Os pulsos foram captados por uma placa receptora AM (modelo RA 1000 TH, Mini Mitter Co.) posicionada próxima ao rato, sendo enviados na seqüência para um decodificador. Este repassou as informações para um software (Vital View, Mini-Mitter) que armazenou os dados. A temperatura intra-peritoneal foi considerada um índice da temperatura corporal interna.

### **3.11** *Tempo total de exercício*

O tempo total de exercício (TTE), em minutos, correspondeu ao intervalo entre o início do exercício e o momento em que os ratos entraram em fadiga. A medida foi realizada utilizando-se cronômetro com precisão de 0,01 segundos.

### **3.12 Medida das variáveis de controle**

#### **3.12.1 Massa corporal dos animais**

A massa corporal dos animais foi registrada diariamente e a variação desta representa um índice do estado de saúde e de hidratação dos ratos (54). Os animais foram pesados antes da realização de cada experimento e o valor foi registrado.

#### **3.11.2 Temperatura ambiente**

A temperatura ambiente foi mantida em 26° C e a umidade relativa do ar em 60% por uma câmara ambiental (Russels Technical Products WMD 1150-5, Holland, MI).

#### **3.11.3 Temperatura no interior da esteira**

A temperatura seca no interior da esteira foi medida a cada minuto de exercício, utilizando-se uma sonda (YSI, modelo 401) posicionada na parte superior da esteira e acoplada a um teletermômetro de temperatura.

### **3.13 Variáveis calculadas**

#### **3.13.1 Taxa de elevação da temperatura corporal**

A taxa de elevação da temperatura corporal nos ratos foi calculada por meio da fórmula proposta por Gordon (17):

$$TET = \frac{\Delta T_{\text{INTERNA}}}{\text{Tempo}}$$

sendo:

TET = Taxa de elevação da temperatura corporal;

$\Delta T_{\text{INTERNA}}$  = variação da temperatura interna entre o fim e o início do intervalo de tempo pré-estabelecido ( $^{\circ}\text{C}$ );

Tempo = intervalo da medida (min);

### **3.14 Eutanásia dos animais**

Após o último dia de experimentos, os animais foram eutanasiados por meio de uma dose letal de pentobarbital sódico (100 mg/kg de massa corporal, via intravenosa).

### **3.15 Análise estatística**

Os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. O teste t foi utilizado para comparar o tempo de exercício até a fadiga, valores basais das variáveis cardiovasculares e termorregulatórias, área sob a curva e a taxa de elevação da temperatura corporal entre os grupos experimentais, bem como para a comparação dos valores das variáveis de controle. As variações dos parâmetros cardiovasculares e termorregulatórios ao longo do tempo de exercício na primeira e segunda situações experimentais foram analisadas por meio de ANOVA – two way com medidas repetidas. Quando foi verificada a diferença na variância entre os grupos experimentais, os dados foram submetidos ao teste post-hoc Student-Newmann-Keuls. Na terceira situação experimental, onde cada animal foi controle de si próprio para as situações salina e fisostigmina, as variações dos parâmetros cardiovasculares e termorregulatórios ao longo do tempo de exercício foram analisadas por meio de ANOVA com parcelas subdividas. Os ratos e as injeções representaram as parcelas, enquanto o tempo de exercício representou as sub-parcelas. Quando

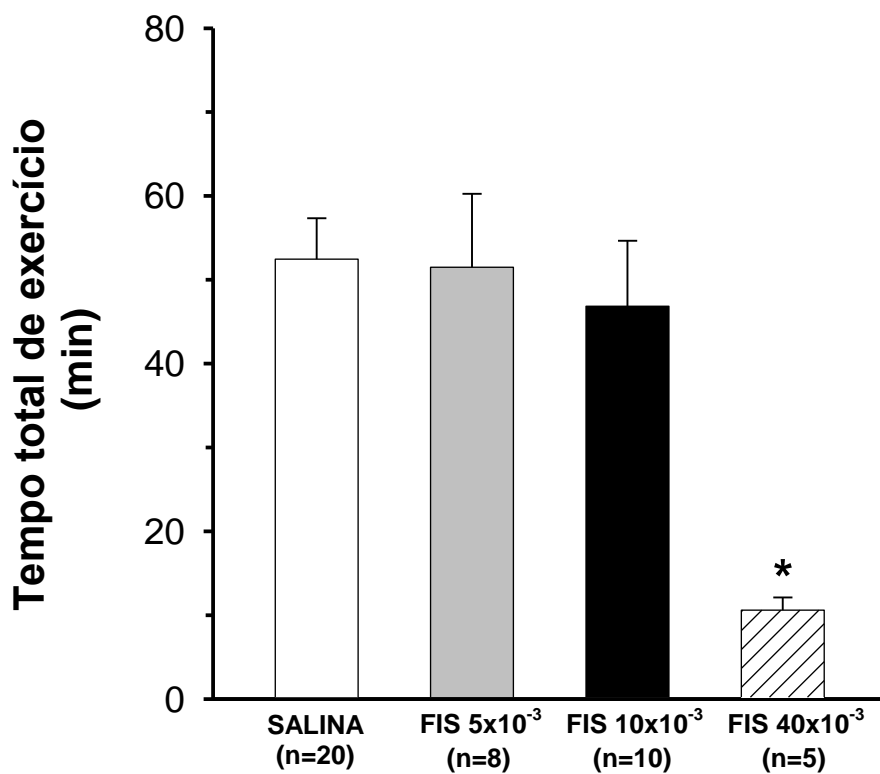
foi verificada a diferença na variância entre as duas situações experimentais, os dados foram submetidos ao teste post-hoc das diferenças mínimas significativas. O nível de significância adotado foi  $p < 0,05$ .

## 4. RESULTADOS

### 4.1 *Efeitos da injeção icv de fisostigmina, em três diferentes concentrações, sobre os ajustes cardiovasculares e termorregulatórios induzidos pelo exercício.*

#### 4.1.1 Tempo total de Exercício

A figura 9 mostra os valores médios do tempo total de exercício após as injeções de fisostigmina ou de salina no ventrículo cerebral lateral direito. As injeções de fisostigmina nas concentrações de  $5 \times 10^{-3}$  M ou  $10 \times 10^{-3}$  M não modificaram o tempo de exercício até fadiga quando comparadas à injeção de salina. Já a injeção de fisostigmina na concentração de  $40 \times 10^{-3}$  M antecipou o momento da fadiga em 79% ( $P < 0,001$ ). Os ratos controles correram  $52 \pm 5$  min, enquanto os ratos injetados com fisostigmina  $40 \times 10^{-3}$  M correram  $11 \pm 1$  min. É importante enfatizar que nesta primeira situação experimental do presente estudo cada rato foi submetido a dois experimentos em ordem randomizada, em um dos experimentos foi realizada a injeção icv de FIS 5, FIS 10 ou FIS 40 e no experimento seguinte os animais foram submetidos à injeção icv de SAL como controle. Após o término dos experimentos com cada concentração do anti-colinesterásico os dados dos experimentos controles foram agrupados formando um grupo de vinte animais (três registros foram excluídos devido a problemas de sinal na coleta dos dados de temperatura intraperitoneal e pressão pulsátil). Este procedimento foi realizado para facilitar a visualização dos dados e a aplicação dos testes estatísticos.



**Figura 9.** Efeito da injeção icv de fisostigmina ( $5 \times 10^{-3}$  M,  $10 \times 10^{-3}$  M ou  $40 \times 10^{-3}$  M) ou de salina 0,15 M sobre o tempo total de exercício de ratos (18 m/min e inclinação de 5%). Os valores expressam média  $\pm$  EPM. \*  $P < 0,01$  em relação aos grupos salina, FIS 5 e FIS 10.

#### 4.1.2 Parâmetros cardiovasculares

A tabela 1 mostra os valores pré-exercício dos parâmetros cardiovasculares e da massa corporal dos grupos Fis 5, Fis 10, Fis 40 ou Sal.

**Tabela 1.** Valores pré-exercício dos parâmetros cardiovasculares e massa corporal dos ratos dos grupos Fis 5, Fis 10, Fis 40 ou Sal.

	Salina ( $n = 20$ )	FIS 5 ( $n = 8$ )	FIS 10 ( $n = 10$ )	FIS 40 ( $n = 5$ )
Massa corporal (g)	296 ± 6	287 ± 9	289 ± 9	317 ± 6
Pressão arterial sistólica (mmHg)	121 ± 2	117 ± 2	125 ± 4	119 ± 6
Pressão arterial diastólica (mmHg)	100 ± 2	95 ± 2	100 ± 3	96 ± 8
Pressão arterial média (mmHg)	111 ± 2	106 ± 2	111 ± 3	109 ± 6
Frequência cardíaca (bpm)	367 ± 8	363 ± 13	374 ± 13	386 ± 14

As variáveis foram medidas durante 30 minutos pré-exercício com os animais na esteira. Os valores apresentados referem-se ao último minuto desse período, imediatamente antes da injeção icv. Os dados expressam média ± EPM.

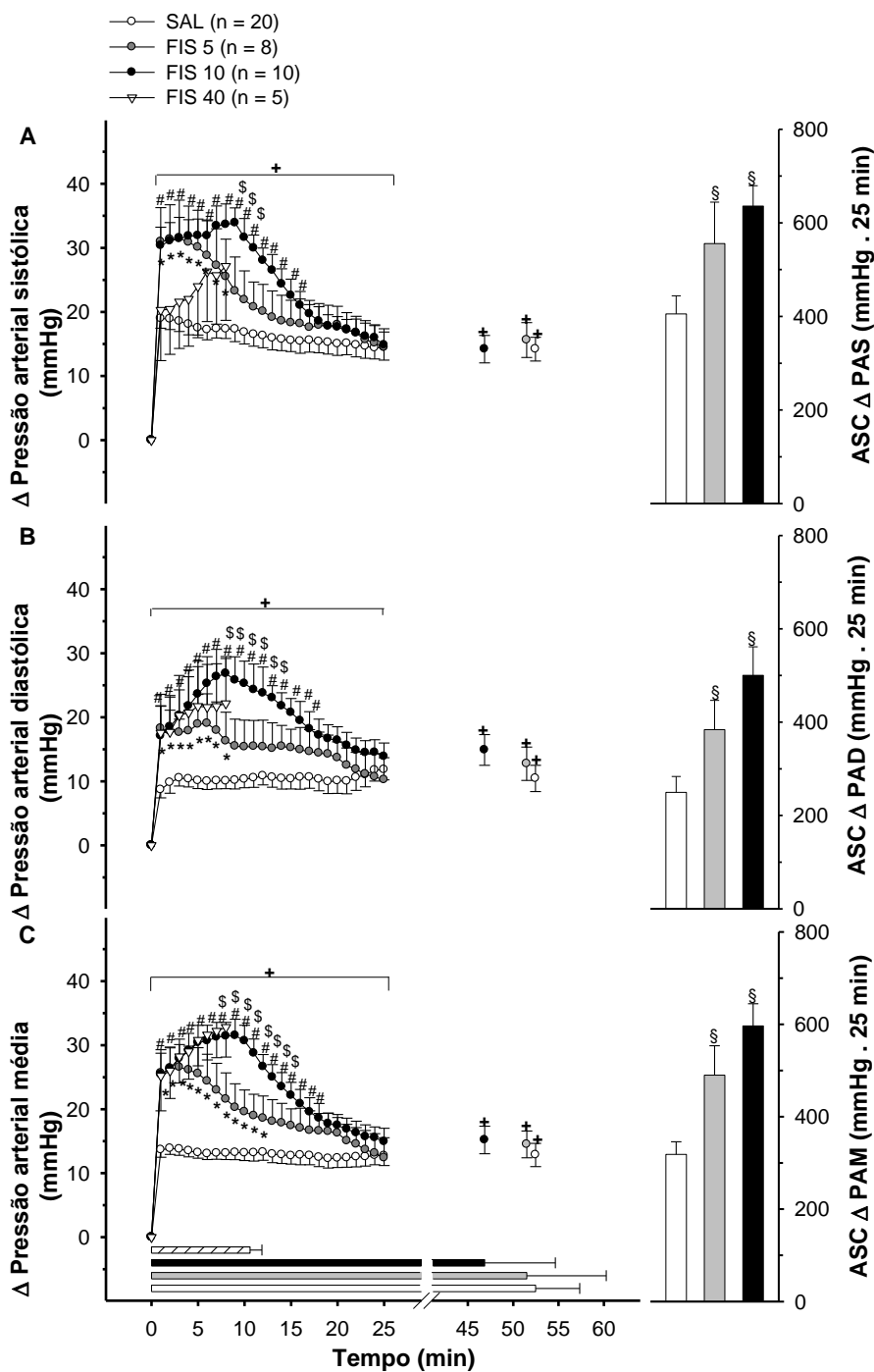
A figura 10 mostra as variações das pressões arteriais sistólica, diastólica e média induzidas pelo exercício até a fadiga em ratos após as injeções icv de fisostigmina ou de salina.

O exercício aumentou as pressões arteriais, sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM), dos quatro grupos de animais a partir do primeiro minuto de exercício e estas permaneceram elevadas até o momento da fadiga. Os aumentos de PAS, PAD e PAM foram maiores no grupo FIS 5 quando comparado ao grupo salina (SAL) ( $\Delta 31 \pm 6$  mmHg FIS 5 vs.  $\Delta 18 \pm 2$  mmHg SAL, PAS;  $\Delta 18 \pm 5$  mmHg FIS 5 vs.  $\Delta 10 \pm 1$  mmHg SAL, PAD;  $\Delta 27 \pm 4$  mmHg FIS 5 vs.  $\Delta$

13 ± 1 mmHg SAL, PAM; aos 5 min). Já os aumentos de PAS, PAD e PAM no grupo FIS 10 foram maiores quando comparado ao grupo FIS 5 e SAL ( $\Delta 33 \pm 3$  mmHg FIS 10 vs.  $\Delta 24 \pm 5$  mmHg FIS 5, PAS;  $\Delta 27 \pm 3$  mmHg FIS 10 vs.  $\Delta 15 \pm 4$  mmHg FIS 5, PAD;  $\Delta 32 \pm 2$  mmHg FIS 5 vs.  $\Delta 21 \pm 3$  mmHg FIS 5, PAM; aos 10 min). Além disso, os aumentos de PAS, PAD e PAM no grupo FIS 10 foram mais prolongados em relação ao controle quando comparados ao grupo FIS 5 (15 min FIS 10 vs 8 min FIS 5, PAS; 17 min FIS 10 vs 8 min FIS 5, PAD; 18 min FIS 10 vs 12 min FIS 5, PAM). Os aumentos de PAS, PAD e PAM no grupo FIS 40 não foram diferentes daqueles dos grupos FIS 10 e FIS 5. No momento da fadiga não houve diferenças entre nos valores de PAS, PAD e PAM entre grupos experimentais.

As barras na parte direita dos painéis mostram a área sob a curva dos 25 minutos iniciais de exercício nos grupos FIS 10, FIS 5 e SAL. A redução de 79% no tempo de exercício até a fadiga nos animais do grupo FIS 40 impossibilitou o cálculo da área sob a curva durante os 25 minutos iniciais de exercício, pois os ratos correram em média apenas 11 minutos. As áreas sob a curva da PAS, PAD e PAM foram maiores nos grupos FIS 10 e FIS 5 quando comparadas ao grupo SAL (643 ± 44 mmHg·min FIS 10; 556 ± 89 mmHg·min FIS 5 vs 405 ± 39 mmHg·min SAL, PAS,  $P < 0,05$ ; 501 ± 61 mmHg·min FIS 10; 384 ± 63 mmHg·min FIS 5 vs 250 ± 34 mmHg·min SAL, PAD,  $P < 0,05$ ; 596 ± 48 mmHg·min FIS 10; 490 ± 64 mmHg·min FIS 5 vs 319 ± 27 mmHg·min SAL, PAM,  $P < 0,05$ ). As áreas sob a curva da PAS, PAD e PAM não foram diferentes entre os grupos FIS 10 e FIS 5.



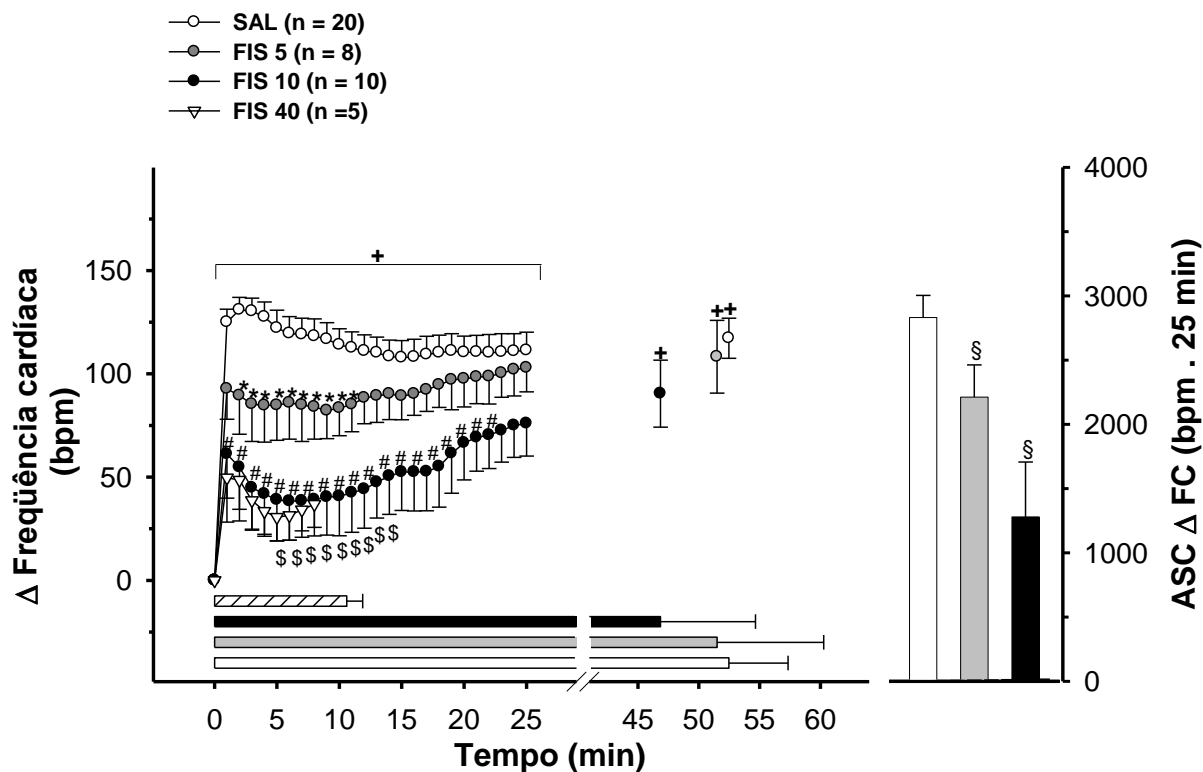


**Figura 10.** Efeito da injeção (icv) de fisostigmina sobre a variação da pressão arterial sistólica (A), pressão arterial diastólica (B) e pressão arterial média (C) de ratos durante o exercício realizado até a fadiga (18 m/min e inclinação de 5%). As barras na parte direita dos painéis representam a área sob a curva (ASC) das variáveis durante os 25 minutos iniciais de exercício. As barras horizontais representam o tempo total de exercício até a fadiga e o ultimo ponto de cada grupo mostra o valor médio correspondente ao momento da fadiga. Os valores expressam média  $\pm$  EPM. +  $P < 0,05$  em relação ao minuto zero. \*  $P < 0,05$  FIS 5 vs SAL. #  $P < 0,05$  FIS 10 vs SAL.. §  $P < 0,05$  FIS 10 vs FIS 5. §  $P < 0,05$  FIS 10 e FIS 5 vs SAL

A figura 11 mostra os valores das variações da frequência cardíaca durante o exercício até a fadiga nos ratos após as injeções de fisostigmina ou de salina.

O exercício aumentou a frequência cardíaca (FC) dos quatro grupos de animais a partir do primeiro minuto de exercício e permaneceu elevada até o momento da fadiga. O aumento de FC foi menor no grupo FIS 5 quando comparado ao grupo (SAL) ( $\Delta 84 \pm 17$  bpm FIS 5 vs.  $\Delta 126 \pm 9$  bpm SAL; aos 5 min). Já o aumento de FC no grupo FIS 10 foi menor quando comparado ao grupo FIS 5 e SAL ( $\Delta 41 \pm 20$  bpm FIS 10 vs.  $\Delta 84 \pm 17$  bpm FIS 5 vs.  $\Delta 126 \pm 9$  bpm SAL; aos 5 min). Além disso, a atenuação do aumento de FC no grupo FIS 10 foi mais prolongado em relação ao controle quando comparado ao grupo FIS 5 (23 min FIS 10 vs 12 min FIS 5). A atenuação do aumento de FC no grupo FIS 40 não foi diferente daquele dos grupos FIS 10 e FIS 5. No momento da fadiga não houve diferenças entre nos valores de FC entre grupos experimentais.

As barras na parte direita do painel mostram a área sob a curva de FC dos 25 minutos iniciais de exercício nos grupos FIS 10, FIS 5 e SAL. A área sob a curva da FC foi menor nos grupos FIS 10 e FIS 5 quando comparada ao grupo SAL ( $1280 \pm 428$  bpm·min FIS 10;  $2211 \pm 250$  bpm·min FIS 5 vs  $2831 \pm 173$  bpm·min SAL, PAS). A área sob a curva da FC não foi diferente entre os grupos FIS 10 e FIS 5.



**Figura 11.** Efeito da injeção icv de fisostigmina (FIS) sobre a variação da frequência cardíaca de ratos durante o exercício realizado até a fadiga (18 m/min e 5% de inclinação). As barras na parte direita dos painéis representam a área sob a curva das variáveis durante os 25 minutos iniciais de exercício. As barras horizontais representam o tempo total de exercício até a fadiga e o último ponto de cada grupo mostra o valor médio correspondente ao momento da fadiga. Os valores expressam média  $\pm$  EPM. +  $P < 0,05$  em relação ao minuto zero. \*  $P < 0,05$  FIS  $5 \times 10^{-3}$  vs SAL. #  $P < 0,05$  FIS  $10 \times 10^{-3}$  vs SAL. \$  $P < 0,05$  FIS  $10 \times 10^{-3}$  vs FIS  $5 \times 10^{-3}$ . §  $P < 0,05$  FIS  $10 \times 10^{-3}$  e FIS  $5 \times 10^{-3}$  vs SAL.

### 4.1.3 Parâmetros termorregulatórios

A tabela 2 mostra os valores pré-exercício dos parâmetros termorregulatórios dos grupos dos grupos Fis 5, Fis 10, Fis 40 ou Sal.

**Tabela 2.** Valores pré-exercício dos parâmetros termorregulatórios dos ratos dos grupos Fis 5, Fis 10, Fis 40 ou Sal.

	Salina ( $n = 20$ )	FIS 5 ( $n = 8$ )	FIS 10 ( $n = 10$ )	FIS 40 ( $n = 5$ )
Temperatura da pele da cauda (°C)	26,80 ± 0,12	26,84 ± 0,27	26,85 ± 0,24	26,49 ± 0,56
Temperatura intraperitoneal (°C)	38,01 ± 0,11	38,21 ± 0,15	37,70 ± 0,23	38,12 ± 0,16
Temperatura ambiente (°C)	25,72 ± 0,10	25,90 ± 0,12	25,81 ± 0,14	25,68 ± 0,06

As variáveis foram medidas durante 30 minutos pré-exercício com os animais na esteira. Os valores apresentados referem-se ao último minuto desse período, imediatamente antes das injeções icv. Os dados expressam média ± EPM.

A figura 12 mostra os valores das variações das temperaturas da pele da cauda e temperatura intraperitoneal durante o exercício até a fadiga nos ratos após as injeções de fisostigmina ou de salina.

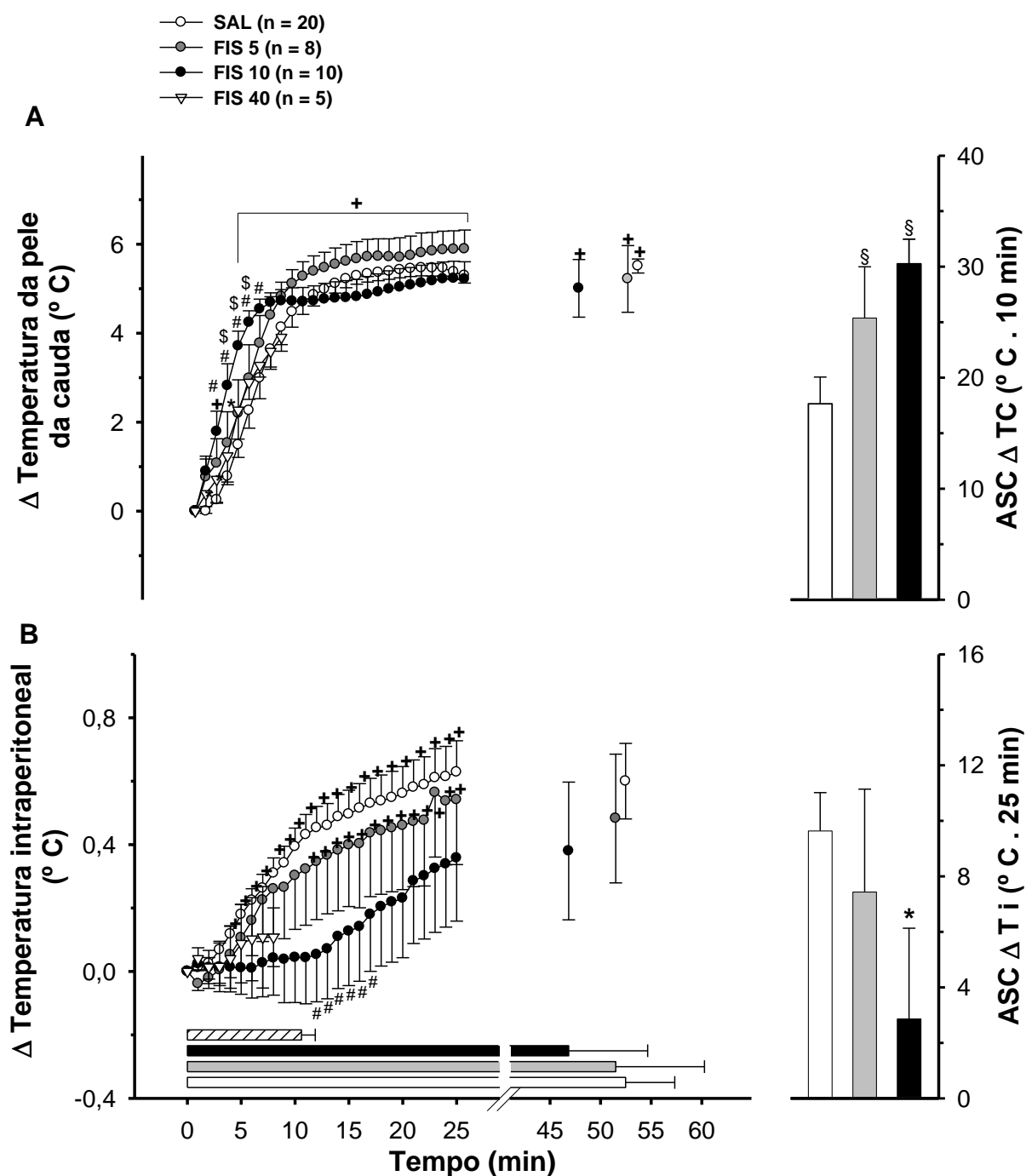
O exercício aumentou a temperatura da pele da cauda ( $T_{\text{cauda}}$ ) nos quatro grupos de animais (figura 4A). A  $T_{\text{cauda}}$  aumentou significativamente a partir do quinto minuto de exercício no grupo SAL e a partir do terceiro minuto de exercício nos grupos FIS 5 e FIS 10 e assim permanecendo até o momento da fadiga. Nos minutos iniciais do exercício, o aumento de  $T_{\text{cauda}}$  foi maior no grupo FIS 5 quando comparado ao grupo SAL ( $\Delta 1,1 \pm 0,8^\circ \text{C}$  FIS 5 vs.  $\Delta 0,1 \pm 0,1^\circ \text{C}$  SAL; aos 3 min). Já o aumento de  $T_{\text{cauda}}$  no grupo FIS 10 foi maior quando comparado ao grupo FIS 5 e SAL ( $\Delta 3,8 \pm 0,3^\circ \text{C}$  FIS 10 vs.  $\Delta 2,2 \pm 0,8^\circ \text{C}$  FIS 5 vs.  $\Delta 1,5 \pm 0,4^\circ \text{C}$  SAL,  $P < 0,05$ ; aos 5 min). O aumento de  $T_{\text{cauda}}$  no grupo FIS 40 não foi diferente daquele dos grupos FIS 10, FIS 5 e SAL. No momento da fadiga não houve diferenças entre nos valores de  $T_{\text{cauda}}$  entre grupos experimentais.

As barras na parte direita do painel mostram a área sob a curva da  $T_{\text{cauda}}$  nos 10 minutos iniciais de exercício nos grupos FIS 10, FIS 5 e SAL. A área sob a curva da  $T_{\text{cauda}}$  foi maior nos grupos FIS 10 e FIS 5 quando comparadas ao grupo SAL ( $30,3 \pm 2,2^\circ \text{C}\cdot\text{min}$  FIS 10;  $25,4 \pm 4,6^\circ \text{C}\cdot\text{min}$  FIS 5 vs  $17,6 \pm 2,4^\circ \text{C}\cdot\text{min}$  SAL,  $P < 0,05$ ). A área sob a curva da  $T_{\text{cauda}}$  não foi diferente entre os grupos FIS 10 e FIS 5.

O exercício aumentou a temperatura intraperitoneal ( $T_{\text{int}}$ ) nos grupos SAL e FIS 5 (figura 4B). A  $T_{\text{int}}$  aumentou a partir do quarto minuto de exercício no grupo SAL e a partir do décimo primeiro minuto de exercício nos grupos FIS 5 e assim permanecendo até o momento da fadiga. No grupo FIS 10 a  $T_{\text{int}}$  não

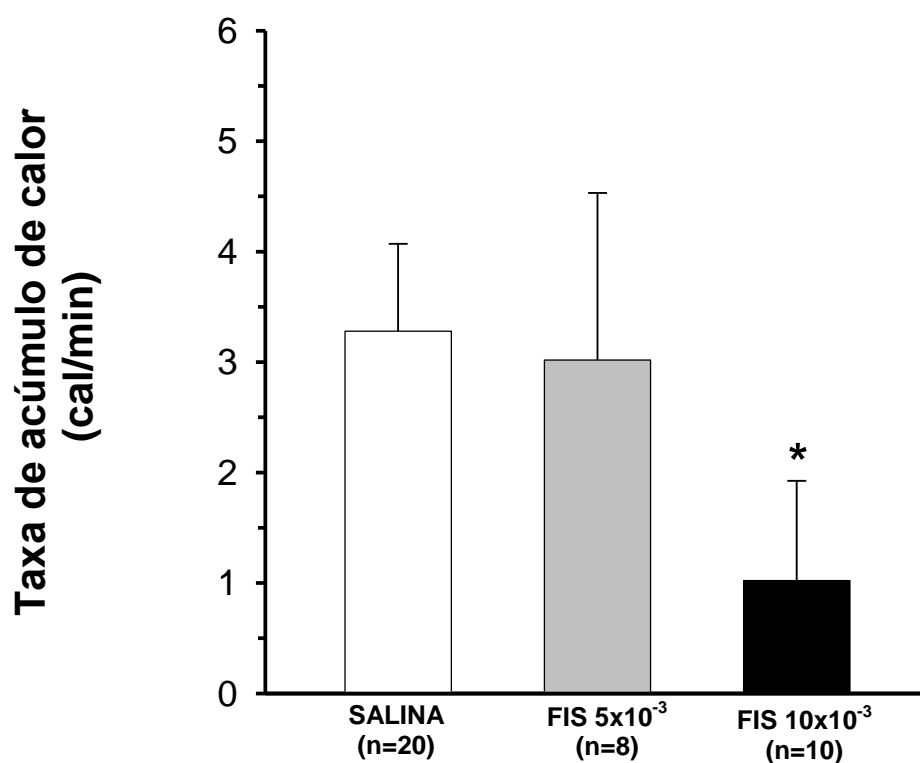
aumentou nos 25 minutos iniciais de exercício, sendo que a  $T_{int}$  no grupo FIS 10 foi menor quando comparado ao grupo SAL do décimo primeiro ao décimo sétimo minuto de exercício ( $\Delta 0,1 \pm 0,2^\circ \text{ C FIS 10 vs. } \Delta 0,5 \pm 0,1^\circ \text{ C SAL, } P < 0,05$ ; aos 13 min). A  $T_{int}$  no grupo FIS 40 não foi diferente daquele dos grupos FIS 10, FIS 5 e SAL. No momento da fadiga não houve diferenças entre nos valores de  $T_{int}$  entre grupos experimentais.

As barras na parte direita do painel mostram a área sob a curva da  $T_{int}$  nos 25 minutos iniciais de exercício nos grupos FIS 10, FIS 5 e SAL. A área sob a curva da  $T_{int}$  foi menor no grupo FIS 10 quando comparada ao grupo SAL ( $2,9 \pm 3,3^\circ \text{ C}\cdot\text{min FIS 10 vs } 9,6 \pm 1,4^\circ \text{ C}\cdot\text{min SAL}$ ). A área sob a curva da  $T_{int}$  não foi diferente entre os grupos FIS 10 e FIS 5.



**Figura 12.** Efeito da injeção icv de fisostigmina sobre a variação da temperatura da pele da cauda (A) e da temperatura intraperitoneal (B) de ratos durante o exercício realizado até a fadiga (18 m/min e 5 % de inclinação). As barras na parte direita dos painéis representam a área sob a curva das variáveis durante os 25 minutos iniciais de exercício. As barras horizontais representam o tempo total de exercício até a fadiga e o último ponto de cada grupo mostra o valor médio correspondente ao momento da fadiga. Os valores expressam média  $\pm$  EPM. +  $P < 0,05$  em relação ao minuto zero. \*  $P < 0,05$  FIS 5 vs SAL. #  $P < 0,05$  FIS 10 vs SAL. \$  $P < 0,05$  FIS 10 vs FIS 5. §  $P < 0,05$  FIS 10 e FIS 5 vs SAL.

A figura 13 mostra a taxa de acúmulo de calor após as injeções de fisostigmina ou de salina no ventrículo cerebral lateral direito. A injeção de fisostigmina na concentração de  $10 \times 10^{-3}$  M diminuiu a taxa de acúmulo de calor corporal durante o exercício quando comparada à injeção de salina ( $1,0 \pm 0,9$  cal/min FIS 10 vs  $3,3 \pm 0,8$  cal/min SAL,  $P < 0,05$ ).

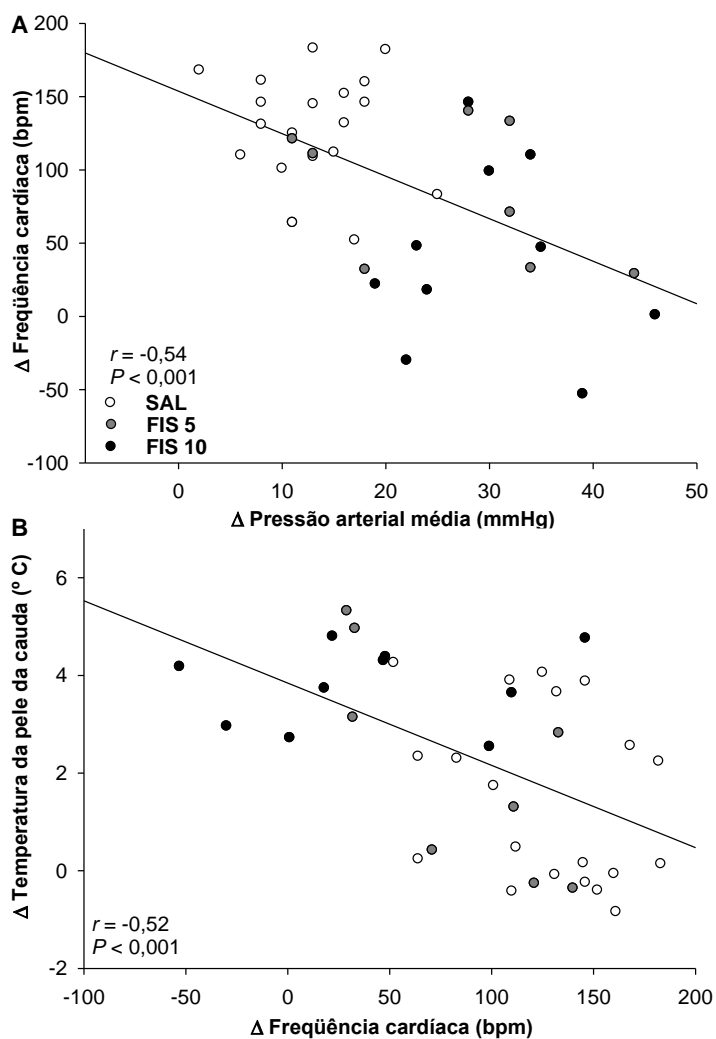


**Figura 13.** Efeito da injeção icv de fisostigmina sobre a taxa de acúmulo de calor de ratos durante o exercício realizado até a fadiga (18 m/min e inclinação de 5%). Os valores expressam média  $\pm$  EPM. \*  $P < 0,05$  em relação ao grupo salina.



#### **4.1.4 Correlações entre as respostas cardiovasculares e a temperatura da pele da cauda durante o exercício**

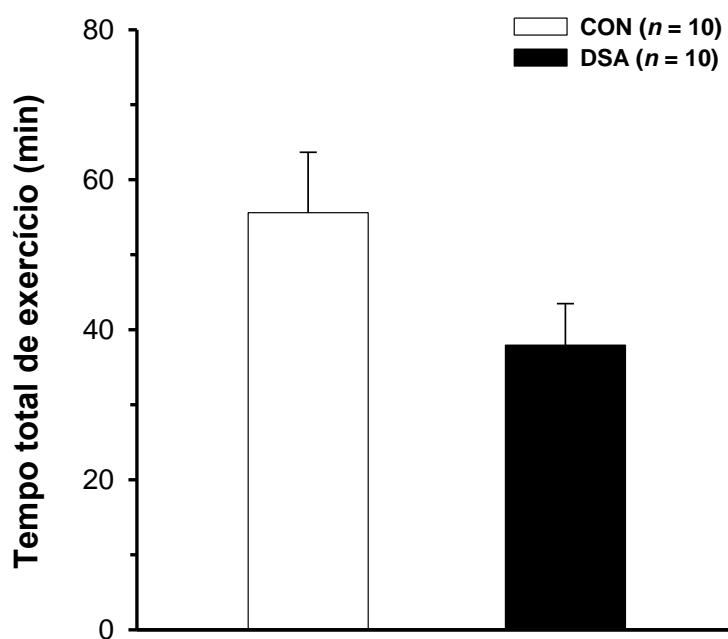
Conforme mostrado na figura 14A variação da pressão arterial média correlacionou-se negativamente com a variação da frequência cardíaca durante o exercício ( $r = -0,54$ ,  $P < 0,001$ ) nos ratos do grupo SAL, FIS 5 e FIS 10. A figura 14B mostra que a variação da frequência cardíaca correlacionou-se negativamente com a variação da temperatura da pele da cauda durante o exercício ( $r = -0,52$ ,  $P < 0,001$ ) nos ratos do grupo SAL, FIS 5 e FIS 10.



**Figura 14.** Correlações entre A) variação da pressão arterial média e variação da freqüência cardíaca B) variação da freqüência cardíaca e variação da temperatura da pele da cauda de ratos durante o exercício realizado até a fadiga (18 m/min e inclinação de 5%) submetidos à injeção intracerebroventricular de salina, fisostigmina  $5 \times 10^{-3}$  M ou fisostigmina  $10 \times 10^{-3}$  M. Os pontos representam os valores das variáveis no quinto minuto de exercício.

## 4.2 Tempo total de Exercício em ratos submetidos à DSA ou cirurgia Fictícia

A figura 15 mostra os valores médios do tempo total de exercício em ratos submetidos à DSA ou a cirurgia Fictícia como controle (CON). O tempo total de exercício até fadiga (TTE) nos ratos DSA foi diferente quando comparado aos animais sham. Os animais do grupo DSA correram  $38 \pm 6$  min enquanto os CON correram  $57 \pm 8$  min. ( $P = 0,09$ )



**Figura 15.** Tempo total de exercício de ratos submetidos à cirurgia fictícia ou a desnervação sino-aórtica crônica (DSA) durante o exercício a (18 m/min e 5% de inclinação) até a fadiga. Os valores expressam média  $\pm$  EPM.

#### 4.2.1 Parâmetros cardiovasculares em ratos submetidos à DSA ou à cirurgia sham

A tabela 3 mostra os valores pré-exercício das variáveis cardiovasculares e da massa corporal dos grupos de animais submetidos à DSA ou CON. Os ratos submetidos à DSA apresentaram maior frequência cardíaca de repouso em comparação aos ratos CON. No entanto, não houve diferença na PAM de repouso entre os grupos.

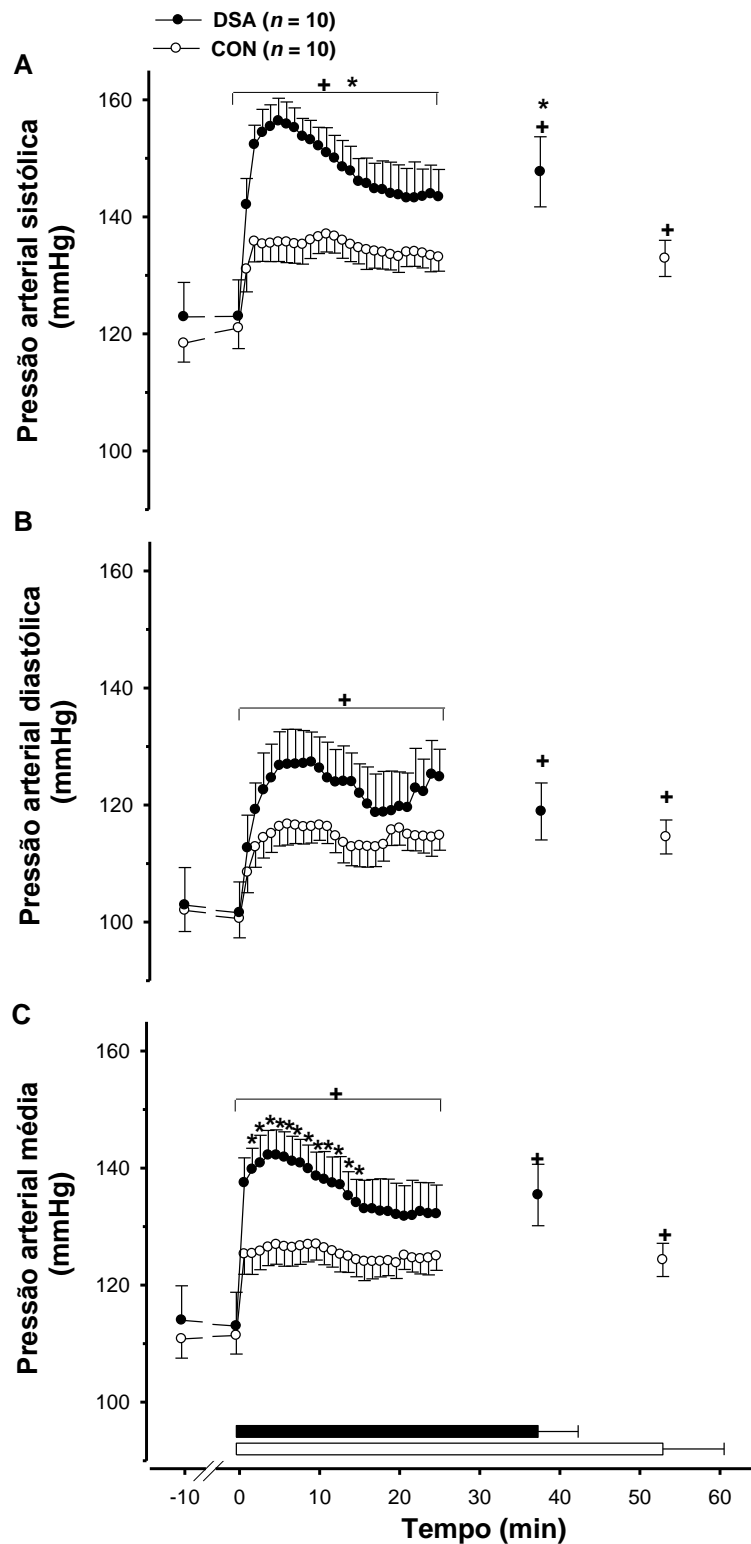
**Tabela 3.** Valores pré-exercício das variáveis cardiovasculares e massa corporal de ratos submetidos à cirurgia fictícia ou a desnervação sino-aórtica crônica (DSA)

	CON ( <i>n</i> = 10)	DSA ( <i>n</i> = 10)
Massa corporal (g)	292 ± 3	297 ± 12
Pressão arterial média (mmHg)	111 ± 3	113 ± 6
Frequência cardíaca (bpm)	368 ± 9	403 ± 14 *

As variáveis foram medidas durante 30 minutos pré-exercício com os animais na esteira. Os valores apresentados referem-se ao último minuto desse período. Os dados expressam média ± EPM. \* *P* < 0,05 em relação ao grupo CON.

A figura 16 mostra os valores das variações das pressões arteriais sistólica, diastólica e média durante o exercício até a fadiga em ratos submetidos à DSA ou CON.

O exercício aumentou as pressões arteriais sistólica, diastólica e média dos dois grupos de animais a partir do primeiro minuto de exercício que permaneceram elevadas até o momento da fadiga. Os aumentos de PAS e PAM foram maiores no grupo DSA quando comparado ao grupo CON ( $143 \pm 4$  mmHg DSA vs.  $127 \pm 3$  mmHg CON, PAM;  $157 \pm 4$  mmHg DSA vs.  $136 \pm 3$  mmHg CON, PAS; aos 5 min). A PAS foi maior no grupo DSA a partir do primeiro minuto de exercício até o momento da fadiga e a PAM do segundo ao décimo terceiro minuto de exercício. O aumento de PAD não foi diferente entre os grupos.

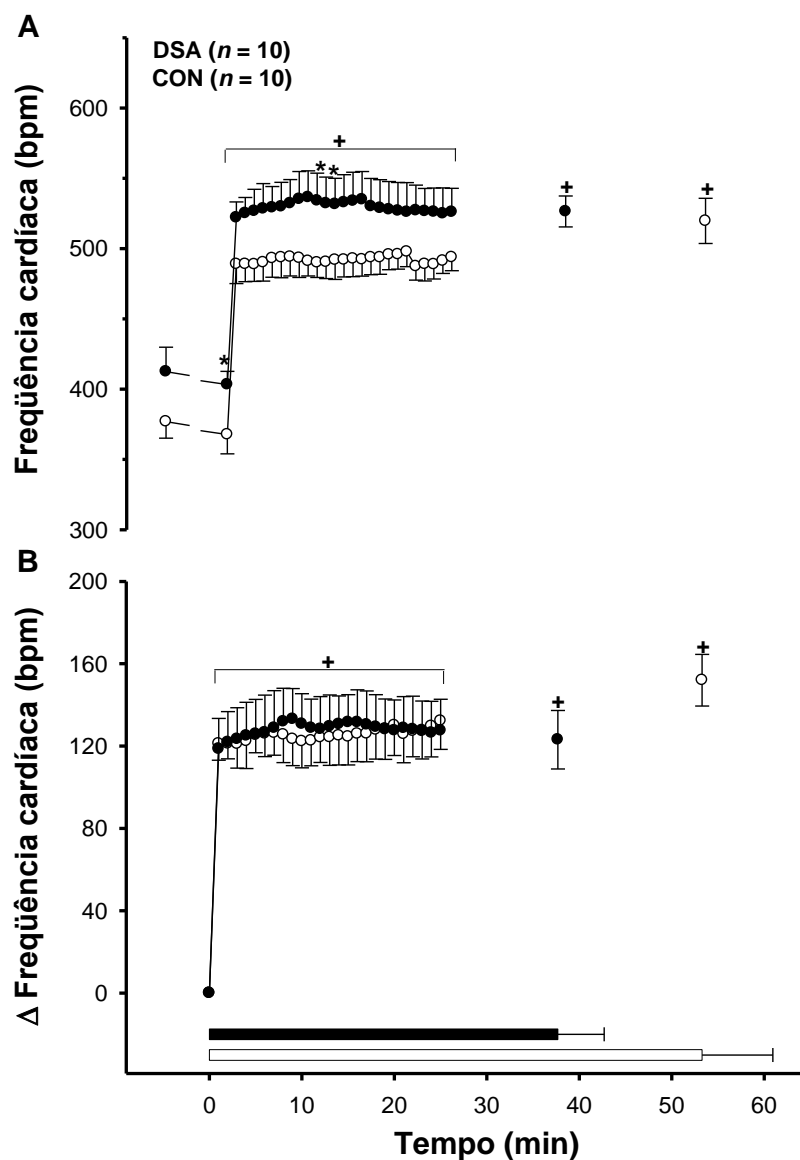


**Figura 16.** Perfil temporal da pressão arterial sistólica (A), pressão arterial diastólica (B) e pressão arterial média (C) de ratos submetidos à desnervação sino-aórtica crônica ou à cirurgia fictícia durante o exercício até a fadiga (18 m/min e 5% de inclinação). As barras horizontais representam o tempo total de exercício até a

fadiga e o ultimo ponto de cada grupo o valor médio correspondente ao momento da fadiga. Os valores expressam média  $\pm$  EPM. +  $P < 0,05$  em relação ao minuto zero. \*  $P < 0,05$  em relação ao grupo CON.

As figuras 17A e 17B mostram respectivamente os valores absolutos e a variação da frequência cardíaca durante o exercício até a fadiga em ratos submetidos à DSA e CON.

O exercício aumentou a frequência cardíaca (FC) dos dois grupos de animais a partir do primeiro minuto de exercício que permaneceu elevada até o momento da fadiga. Conforme mostrado na tabela 3 a FC pré-exercício foi maior no grupo DSA quando comparado ao grupo CON. A FC também foi maior no grupo DSA no décimo e décimo primeiro minuto de exercício ( $539 \pm 11$  bpm DSA vs.  $491 \pm 20$  bpm CON, PAS,  $P < 0,05$ ; aos 10 min). Em função da diferença nos valores pré-exercício entre grupos a variação da FC também foi calculada (Figura 17B). Durante o exercício a variação de FC não foi diferente entre os dois grupos.



**Figura 17.** Perfil temporal da frequência cardíaca (A) e do delta da frequência cardíaca (B) de ratos submetidos à desnervação sino-aórtica crônica ou a cirurgia fictícia durante o exercício até a fadiga (18 m/min e 5% de inclinação). As barras horizontais representam o tempo total de exercício até a fadiga e o ultimo ponto de cada grupo o valor médio correspondente ao momento da fadiga. Os valores expressam média  $\pm$  EPM. +  $P < 0,05$  em relação ao minuto zero. \*  $P < 0,05$  em relação ao grupo CON.



### 3.2.3 Parâmetros termorregulatórios em ratos submetidos à DSA ou cirurgia sham

A tabela 4 mostra os valores pré-exercício das variáveis termorregulatórias dos animais submetidos à DSA ou CON.

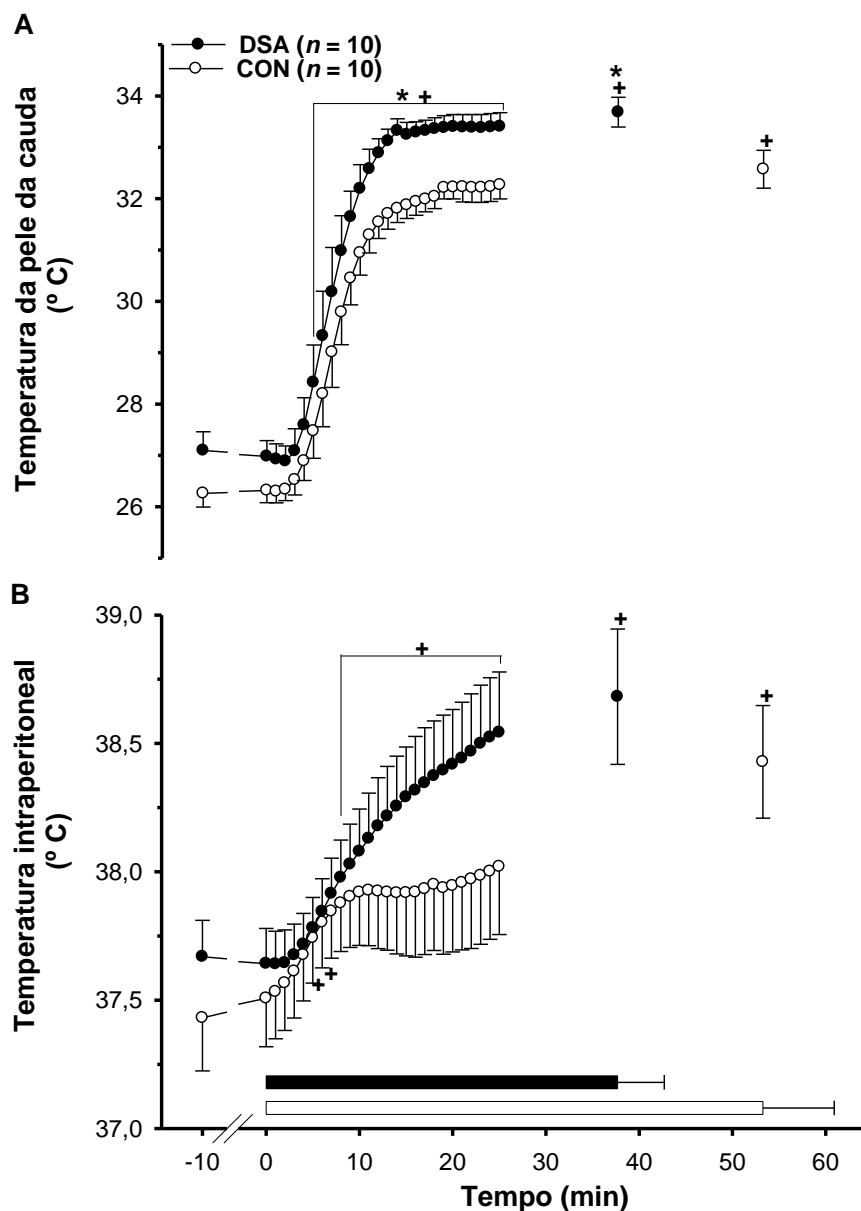
**Tabela 4.** Valores pré-exercício dos parâmetros termorregulatórios de ratos submetidos à cirurgia fictícia ou a desnervação sino-aórtia crônica (DSA)

	CON ( $n = 10$ )	DSA ( $n = 10$ )
Temperatura intraperitoneal ( $^{\circ}$ C)	37,64 $\pm$ 0,14	37,51 $\pm$ 0,19
Temperatura da pele da cauda ( $^{\circ}$ C)	26,32 $\pm$ 0,24	26,98 $\pm$ 0,31
Temperatura ambiente ( $^{\circ}$ C)	25,72 $\pm$ 0,08	25,55 $\pm$ 0,11

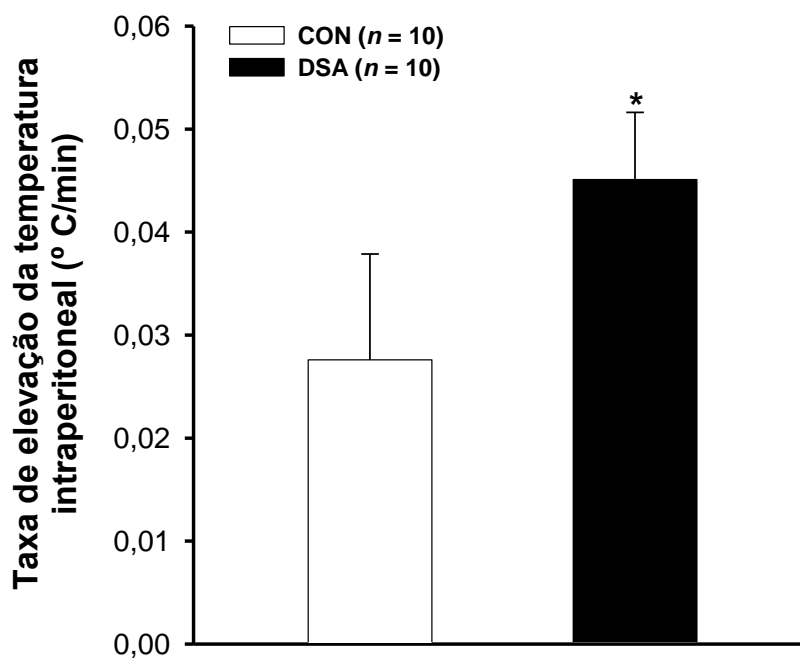
As variáveis foram medidas durante 30 minutos pré-exercício com os animais na esteira. Os valores apresentados referem-se ao último minuto desse período. Os dados expressam média  $\pm$  EPM. Não houve diferenças nos valores entre os grupos.

A figura 18 mostra os valores da temperatura da pele da cauda e da temperatura intraperitoneal durante o exercício até a fadiga em ratos submetidos à DSA e CON.

O exercício aumentou a  $T_{\text{cauda}}$  dos dois grupos de animais (Figura 18A). Em ambos os grupos este aumento ocorreu a partir do quinto minuto de exercício assim permanecendo até o momento da fadiga. Entretanto durante este intervalo de tempo o aumento da  $T_{\text{cauda}}$  foi maior no grupo DSA quando comparado ao grupo CON ( $32,22 \pm 0,47^{\circ}\text{C}$  DSA vs.  $30,97 \pm 0,43^{\circ}\text{C}$  CON,  $P < 0,05$ ; aos 10 min). O exercício aumentou a  $T_{\text{int}}$  dos dois grupos de animais (Figura 18B). No grupo DSA a  $T_{\text{int}}$  aumentou a partir do oitavo minuto de exercício assim permanecendo até o momento da fadiga ( $38,68 \pm 0,23^{\circ}\text{C}$  momento da fadiga vs.  $37,64 \pm 0,14^{\circ}\text{C}$  minuto zero DSA,  $P < 0,05$ ). No grupo CON a  $T_{\text{int}}$  aumentou a partir do sexto minuto de exercício permanecendo elevada até o momento da fadiga ( $38,43 \pm 0,22^{\circ}\text{C}$  momento da fadiga vs.  $37,51 \pm 0,19^{\circ}\text{C}$  minuto zero CON,  $P < 0,05$ ). Não houve diferenças nos valores da  $T_{\text{int}}$  entre os grupos. Entretanto, o perfil temporal do aumento da  $T_{\text{int}}$  foi diferente os grupos e a taxa de elevação da  $T_{\text{int}}$  nos primeiros vinte e cinco minutos de exercício foi maior no grupo DSA quando comparado ao grupo CON ( $0,045 \pm 0,006^{\circ}\text{C}/\text{min}$  DSA vs.  $0,028 \pm 0,010^{\circ}\text{C}/\text{min}$  CON,  $P < 0,05$ ; Figura 19).



**Figura 18.** Perfil temporal da temperatura da pele da cauda (A) e da temperatura intraperitoneal (B) de ratos submetidos à desnervação sino-aórtica (DSA) crônica ou a cirurgia fictícia durante o exercício físico realizado até a fadiga (18 m/min e 5% de inclinação). As barras horizontais representam o tempo total de exercício até a fadiga e o último ponto de cada grupo o valor médio correspondente ao momento da fadiga. Os valores expressam média  $\pm$  EPM. +  $P < 0,05$  em relação ao minuto zero. \*  $P < 0,05$  em relação ao grupo CON.



**Figura 19.** Taxa de elevação da temperatura intraperitoneal em ratos submetidos à desnervação sino-aórtica crônica (DSA) ou a cirurgia fictícia durante os 25 min iniciais do o exercício a 18 m/min e 5% de inclinação até a fadiga. Os valores expressam média  $\pm$  EPM. \*  $P < 0,05$  DSA vs. CON.

#### 4.2.4 Teste da sensibilidade barorreflexa (segunda situação experimental)

A tabela 5 mostra a variação da pressão arterial média e da frequência cardíaca em resposta à injeção intravenosa de fenilefrina e nitroprussiato de sódio nos ratos submetidos à DSA ou CON na segunda situação experimental. A injeção de fenilefrina aumentou a pressão arterial média de ambos os grupos provocando bradicardia reflexa. Entretanto a diminuição da frequência cardíaca induzida pela fenilefrina foi menor no grupo DSA quando comparado ao grupo CON. Por outro lado, a injeção de nitroprussiato de sódio diminuiu a pressão arterial em ambos os grupos provocando taquicardia reflexa. O aumento da frequência cardíaca foi menor no grupo DSA quando comparado ao grupo CON. Conforme a tabela 5, a DSA atenuou em 85% a sensibilidade do barorreflexo ao aumento da pressão arterial induzido pela injeção de fenilefrina e atenuou em 83% a sensibilidade do barorreflexo à hipotensão induzida pela injeção de nitroprussiato de sódio. Todos os testes foram realizados ao término dos experimentos cerca de três semanas após a cirurgia para a DSA.

**Tabela 5.** Teste da sensibilidade barorreflexa em ratos submetido à cirurgia fictícia ou a desnervação sino-aórtica crônica (DSA).

	CON ( <i>n</i> = 10)	DSA ( <i>n</i> = 10)
	<i>Fenilefrina</i>	<i>Fenilefrina</i>
Δ PAM (mmHg)	43 ± 3	45 ± 5
Δ FC (bpm)	- 96 ± 16	- 16 ± 4 *

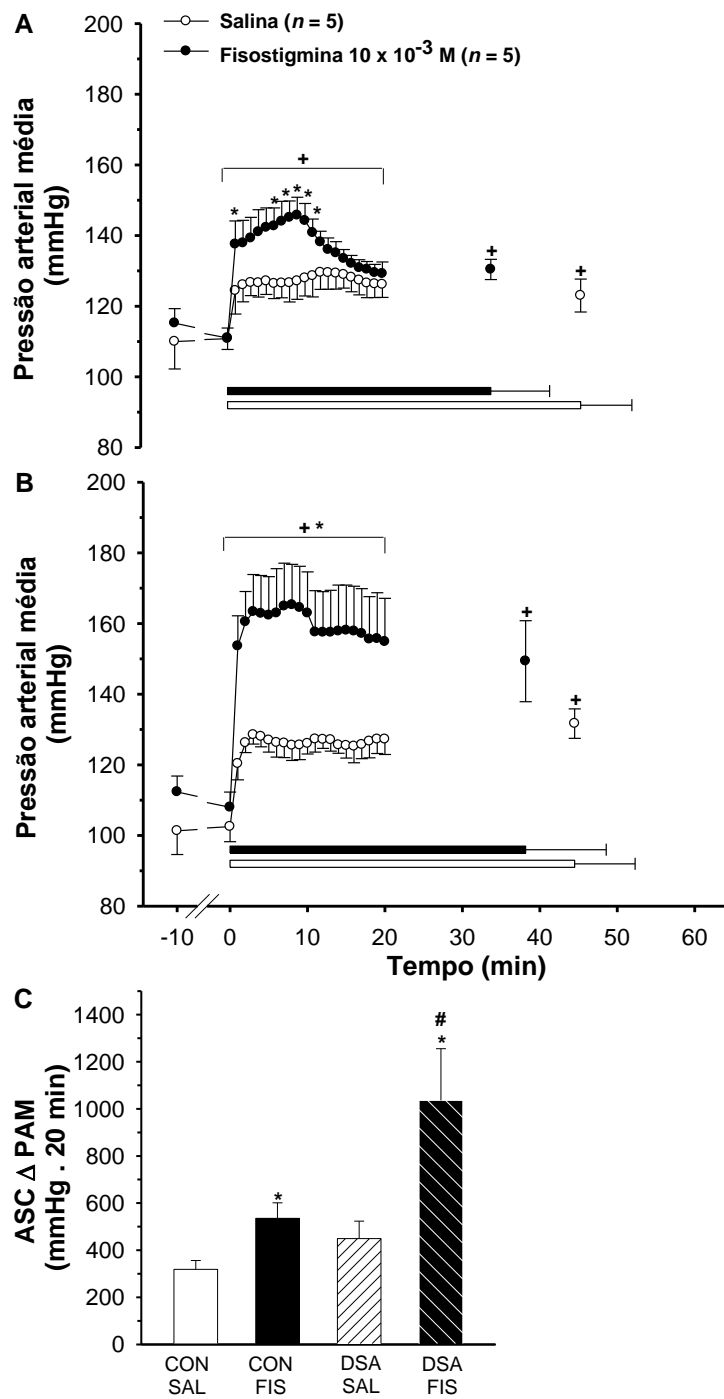
$\Delta FC/\Delta PAM$ (bpm/mmHg)	$-2,13 \pm 0,25$	$-0,32 \pm 0,08$ (85%) *
	<i>Nitroprussiato</i>	<i>Nitroprussiato</i>
$\Delta PAM$ (mmHg)	$-27 \pm 3$	$-30 \pm 3$
$\Delta FC$ (bpm)	$55 \pm 7$	$10 \pm 2$ *
$\Delta FC/\Delta PAM$ (bpm/mmHg)	$-2,21 \pm 0,37$	$-0,37 \pm 0,08$ (83%) *

Varição da pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) após a infusão i.v. de fenilefrina (1 - 5 $\mu$ g/mL em 0,1 mL de salina) e nitroprussiato de sódio (2,5 - 5 $\mu$ g/mL em 0,1 mL de salina). A sensibilidade barorreflexa foi calculada como a razão entre a variação ( $\Delta$ ) da frequência cardíaca em resposta à variação da pressão arterial média. Os valores expressam média  $\pm$  EPM; os dados entre parênteses indicam o percentual de redução da sensibilidade barorreflexa em relação ao grupo CON. \*  $P < 0,01$  em comparação ao grupo CON.

#### 4.3 Efeitos da injeção icv de fisostigmina sobre os parâmetros cardiovasculares em ratos submetidos à DSA ou cirurgia fictícia

A figura 20 mostra os efeitos da injeção icv de fisostigmina  $10 \times 10^{-3}$  M sobre a pressão arterial média durante o exercício até a fadiga em ratos submetidos à DSA e cirurgia fictícia.

O exercício aumentou a pressão arterial média (PAM) dos quatro grupos de animais a partir do primeiro minuto de exercício e este parâmetro permaneceu elevado até o momento da fadiga. A injeção icv de fisostigmina induziu maior aumento da PAM quando comparada à injeção de icv de salina no grupo CON ( $147 \pm 5$  mmHg FIS vs.  $128 \pm 5$  mmHg SAL,  $P < 0,05$ ; Figura 20A) e no grupo DSA ( $165 \pm 12$  mmHg FIS vs.  $125 \pm 3$  mmHg SAL,  $P < 0,05$ ; Figura 20B). Além disso, o aumento da PAM induzida pela injeção icv de fisostigmina foi maior no grupo DSA quando comparado ao grupo CON como mostrado pela área sob a curva dos 20 minutos iniciais de exercício ( $1036 \pm 219$  mmHg·min DSA FIS vs.  $535 \pm 66$  mmHg·min CON FIS,  $P < 0,05$ ; Figura 20C).

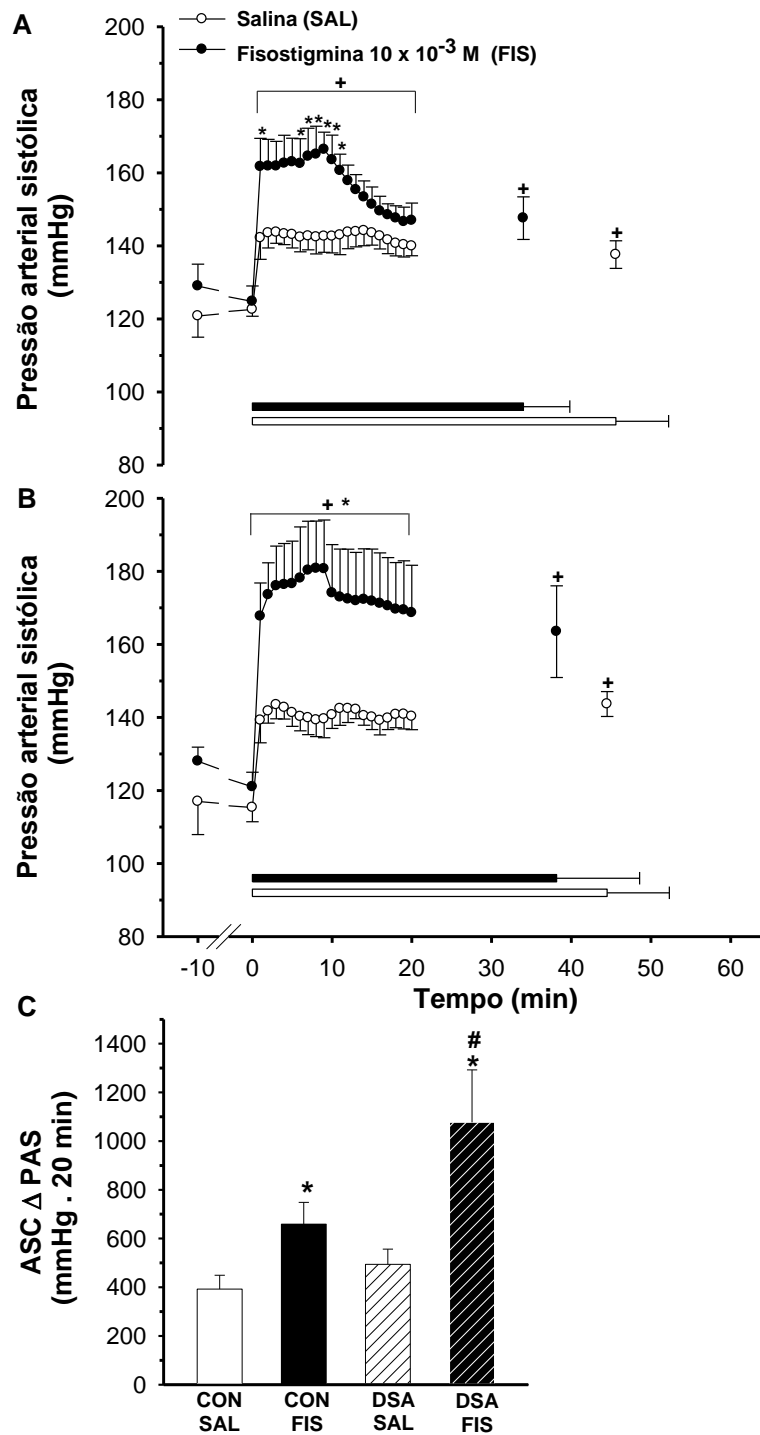


**Figura 20.** Pressão arterial média de ratos submetidos à cirurgia fictícia (CON) [n = 5] (A) ou a desnervação sino-aórtica crônica [n = 6] (B) durante o exercício realizado até a fadiga (18 m/min e 5 % de inclinação). No painel (C) estão representadas as áreas sob curva (ASC) durante os vinte minutos iniciais de exercício nos dois grupos. As barras horizontais representam o tempo total de exercício até a fadiga e o ultimo ponto de cada grupo o mostra o valor médio correspondente ao momento da fadiga. Os valores expressam média  $\pm$  EPM. +  $P < 0,05$  em relação ao minuto zero. \*  $P < 0,05$  em relação ao grupo salina. #  $P < 0,05$  em relação ao grupo CON- FIS.

A figura 21 mostra os efeitos da injeção icv de fisostigmina  $10 \times 10^{-3}$  M sobre a pressão arterial sistólica durante o exercício até a fadiga em ratos submetidos à DAS ou à cirurgia fictícia.

O exercício aumentou a pressão arterial sistólica (PAS) dos quatro grupos de animais a partir do primeiro minuto de exercício e esta permaneceu elevada até o momento da fadiga. A injeção icv de fisostigmina induziu maior aumento da PAM quando comparada à injeção de icv de salina no grupo CON ( $166 \pm 7$  mmHg FIS vs.  $143 \pm 5$  mmHg SAL,  $P < 0,05$ ; Figura 21A) e no grupo DSA ( $180 \pm 13$  mmHg FIS vs.  $138 \pm 4$  mmHg SAL,  $P < 0,05$ ; Figura 21B). Além disso, o aumento da PAM induzida pela injeção icv de fisostigmina foi maior no grupo DSA quando comparado ao grupo CON como mostrado pela área sob a curva dos 20 minutos iniciais de exercício ( $1077 \pm 215$  mmHg·min DSA FIS vs.  $659 \pm 89$  mmHg·min CON FIS,  $P < 0,05$ ; Figura 21C).

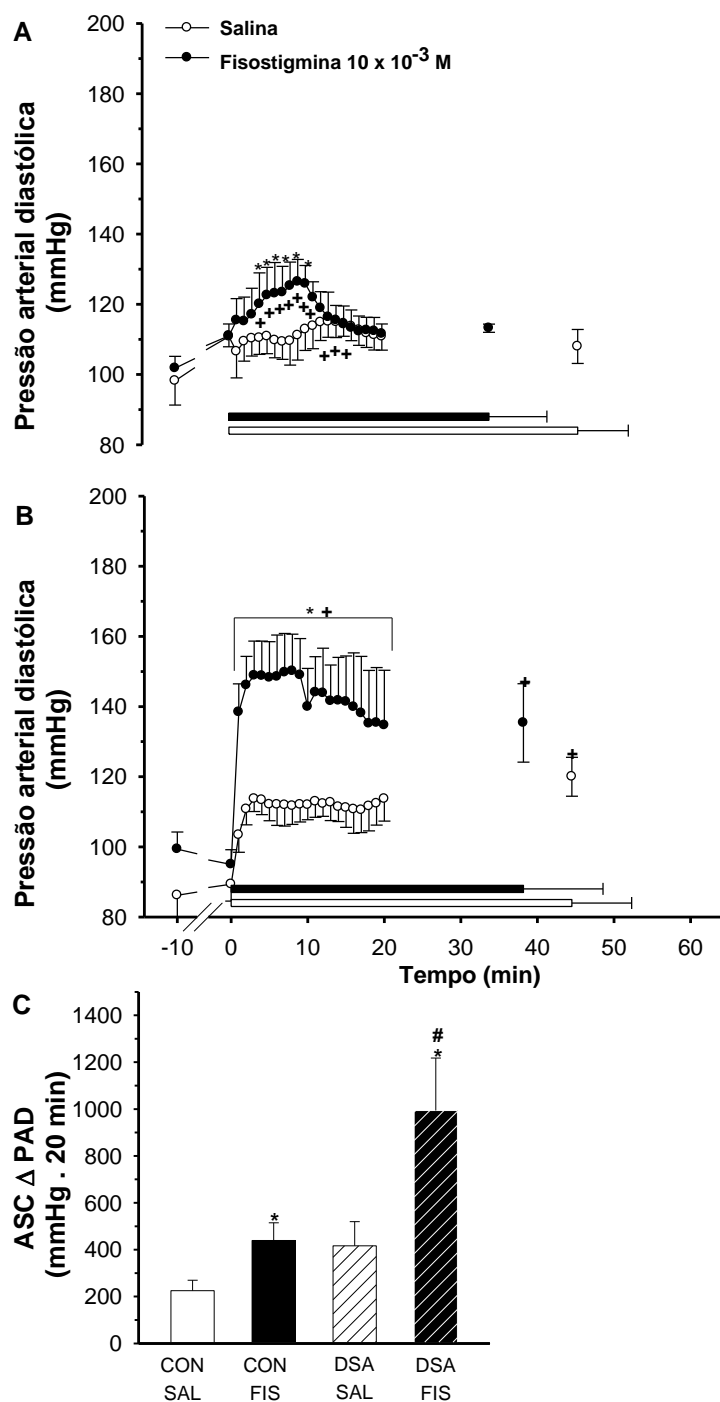




**Figura 21.** Pressão arterial sistólica de ratos submetidos à cirurgia fictícia (CON) [ $n = 5$ ] (A) ou a desnervação sino-aórtica crônica [ $n = 6$ ] (B) durante o exercício realizado até a fadiga (18 m/min e 5 % de inclinação). No painel (C) estão representadas as áreas sob curva (ASC) durante os vinte minutos iniciais de exercício nos dois grupos. As barras horizontais representam o tempo total de exercício até a fadiga e o último ponto de cada grupo o mostra o valor médio correspondente ao momento da fadiga. Os valores expressam média  $\pm$  EPM. +  $P < 0,05$  em relação ao minuto zero. \*  $P < 0,05$  em relação ao grupo salina. #  $P < 0,05$  em relação ao grupo CON- FIS.

A figura 22 mostra os efeitos da injeção icv de fisostigmina  $10 \times 10^{-3}$  M sobre a pressão arterial diastólica durante o exercício até a fadiga em ratos submetidos à DSA ou à cirurgia fictícia.

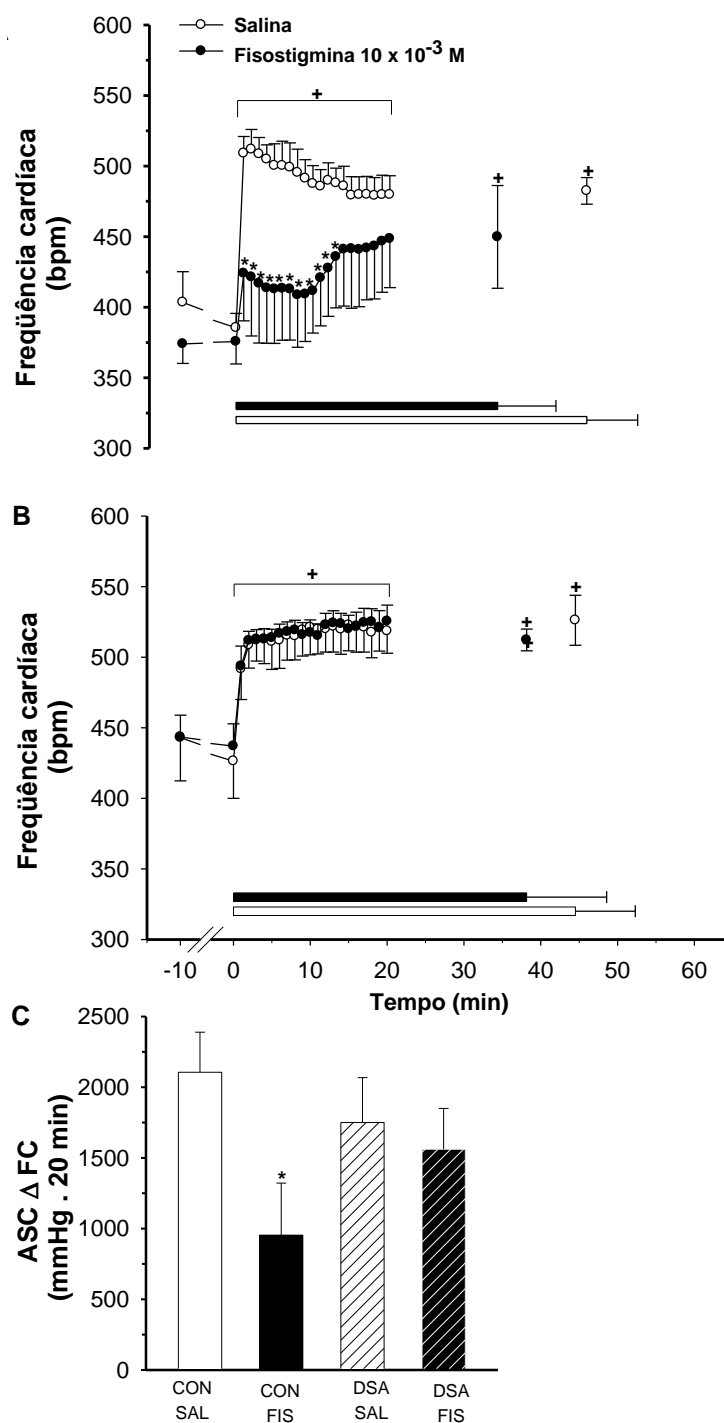
O exercício aumentou a pressão arterial diastólica (PAD) dos quatro grupos de animais a partir do primeiro minuto de exercício e está permaneceu elevada até o momento da fadiga. A injeção icv de fisostigmina induziu maior aumento da PAM quando comparada à injeção de icv de salina no grupo CON ( $129 \pm 5$  mmHg FIS vs.  $112 \pm 6$  mmHg SAL,  $P < 0,05$ ; Figura 22A) e no grupo DSA ( $150 \pm 11$  mmHg FIS vs.  $112 \pm 4$  mmHg SAL,  $P < 0,05$ ; Figura 22B). Além disso, o aumento da PAM induzida pela injeção icv de fisostigmina foi maior no grupo DSA quando comparado ao grupo CON como mostrado pela área sob a curva dos 20 minutos iniciais de exercício ( $994 \pm 224$  mmHg·min DSA FIS vs.  $417 \pm 103$  mmHg·min CON FIS,  $P < 0,05$ ; Figura 22C).



**Figura 22.** Pressão arterial diastólica de ratos submetidos à cirurgia fictícia (CON) [n = 5] **(A)** ou a desnervação sino-aórtica crônica [n = 6] **(B)** durante o exercício realizado até a fadiga (18 m/min e 5 % de inclinação). No painel **(C)** estão representadas as áreas sob curva (ASC) durante os vinte minutos iniciais de exercício nos dois grupos. As barras horizontais representam o tempo total de exercício até a fadiga e o último ponto de cada grupo o mostra o valor médio correspondente ao momento da fadiga. Os valores expressam média  $\pm$  EPM. +  $P < 0,05$  em relação ao minuto zero. \*  $P < 0,05$  em relação ao grupo salina. #  $P < 0,05$  em relação ao grupo CON- FIS.

A figura 23 mostra os efeitos da injeção icv de fisostigmina  $10 \times 10^{-3}$  M sobre a frequência cardíaca durante o exercício até a fadiga em ratos submetidos à DSA ou à cirurgia fictícia.

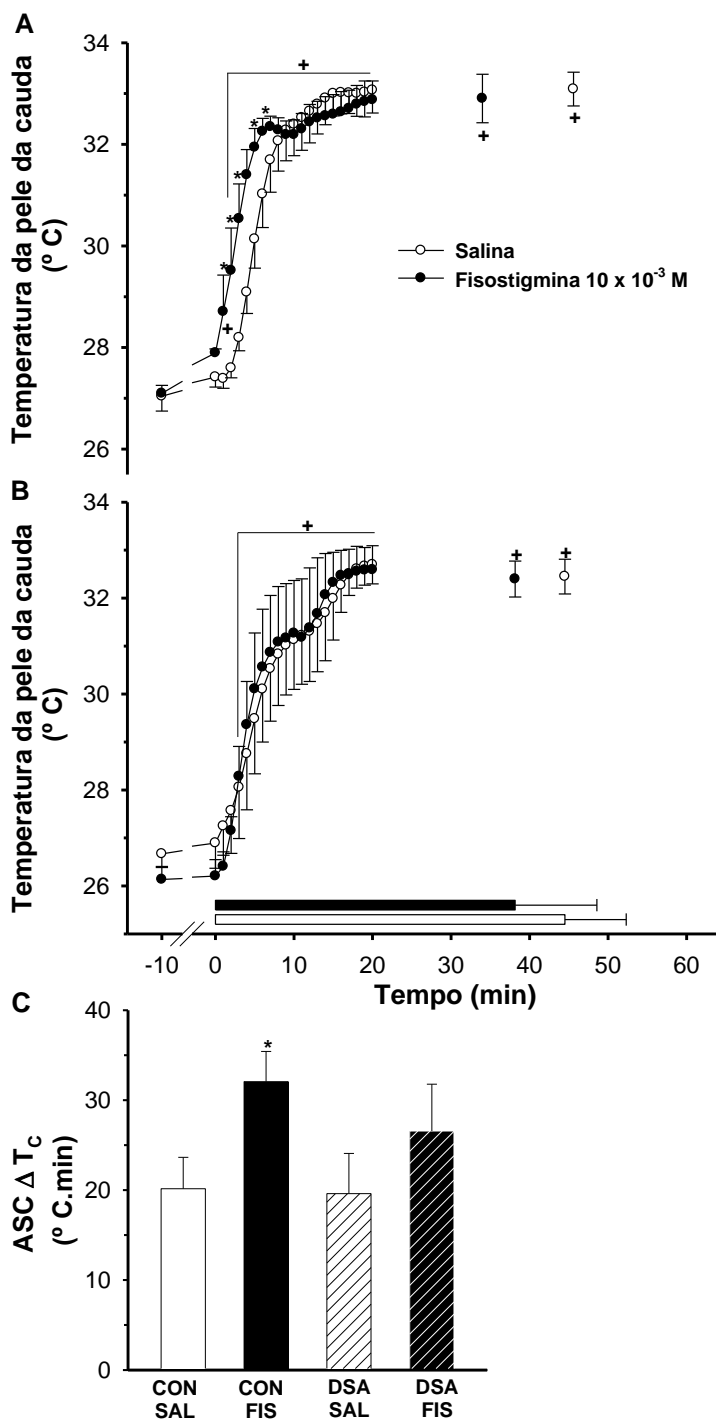
O exercício aumentou a frequência cardíaca (FC) dos quatro grupos de animais a partir do primeiro minuto de exercício e esta permaneceu elevada até o momento da fadiga. A injeção icv de fisostigmina atenuou o aumento da FC quando comparada à injeção de icv de salina no grupo CON ( $401 \pm 30$  bpm FIS vs.  $490 \pm 13$  bpm SAL,  $P < 0,05$ ; Figura 23A). Entretanto no grupo DSA a injeção não alterou a FC em comparação à injeção de salina ( $517 \pm 9$  bpm FIS vs.  $521 \pm 19$  bpm SAL; Figura 23B). A área sob a curva do grupo CON FIS foi menor quando comparada ao grupo CON SAL ( $953 \pm 368$  bpm·min CON FIS vs.  $2106 \pm 283$  bpm·min CON SAL,  $P < 0,05$ ; Figura 23C). No entanto, não houve diferenças entre os grupos DSA FIS vs. DSA SAL e DSA FIS vs CON FIS não houve diferenças (Figura 23C).



**Figura 23.** Frequência cardíaca de ratos submetidos à cirurgia fictícia (CON) [ $n = 5$ ] (A) ou a desnervação sino-aórtica crônica [ $n = 6$ ] (B) durante o exercício realizado até a fadiga (18 m/min e 5 % de inclinação). No painel (C) estão representadas as áreas sob curva (ASC) durante os vinte minutos iniciais de exercício nos dois grupos. As barras horizontais representam o tempo total de exercício até a fadiga e o último ponto de cada grupo o mostra o valor médio correspondente ao momento da fadiga. Os valores expressam média  $\pm$  EPM. +  $P < 0,05$  em relação ao minuto zero. \*  $P < 0,05$  em relação ao grupo salina.

A figura 24 mostra os efeitos da injeção icv de fisostigmina  $10 \times 10^{-3}$  M sobre a temperatura da pele da cauda durante o exercício até a fadiga em ratos submetidos à DSA ou à cirurgia fictícia.

O exercício aumentou a  $T_{\text{cauda}}$  dos dois grupos de animais e está permaneceu elevada até o momento da fadiga. A injeção icv de fisostigmina induziu maior elevação e antecipou o aumento da  $T_{\text{cauda}}$  quando comparada à injeção icv de salina no grupo CON ( $32,05 \pm 0,26^{\circ}$  C FIS vs.  $30,15 \pm 0,66^{\circ}$  C SAL,  $P < 0,05$ ; Figura 24A). Entretanto no grupo DSA a injeção de fisostigmina não alterou a  $T_{\text{cauda}}$  em comparação à injeção de salina ( $30,89 \pm 1,16^{\circ}$  C FIS vs.  $30,60 \pm 1,07^{\circ}$  C SAL; Figura 24B). A área sob a curva do grupo CON FIS foi maior quando comparada ao grupo CON SAL ( $32 \pm 3^{\circ}$  C·min CON FIS vs.  $20 \pm 3^{\circ}$  C·min CON SAL,  $P < 0,05$ ; Figura 24C). No entanto, não houve diferenças entre os grupos DSA FIS vs. DSA SAL e DSA FIS vs CON FIS não houve diferenças (Figura 24C).

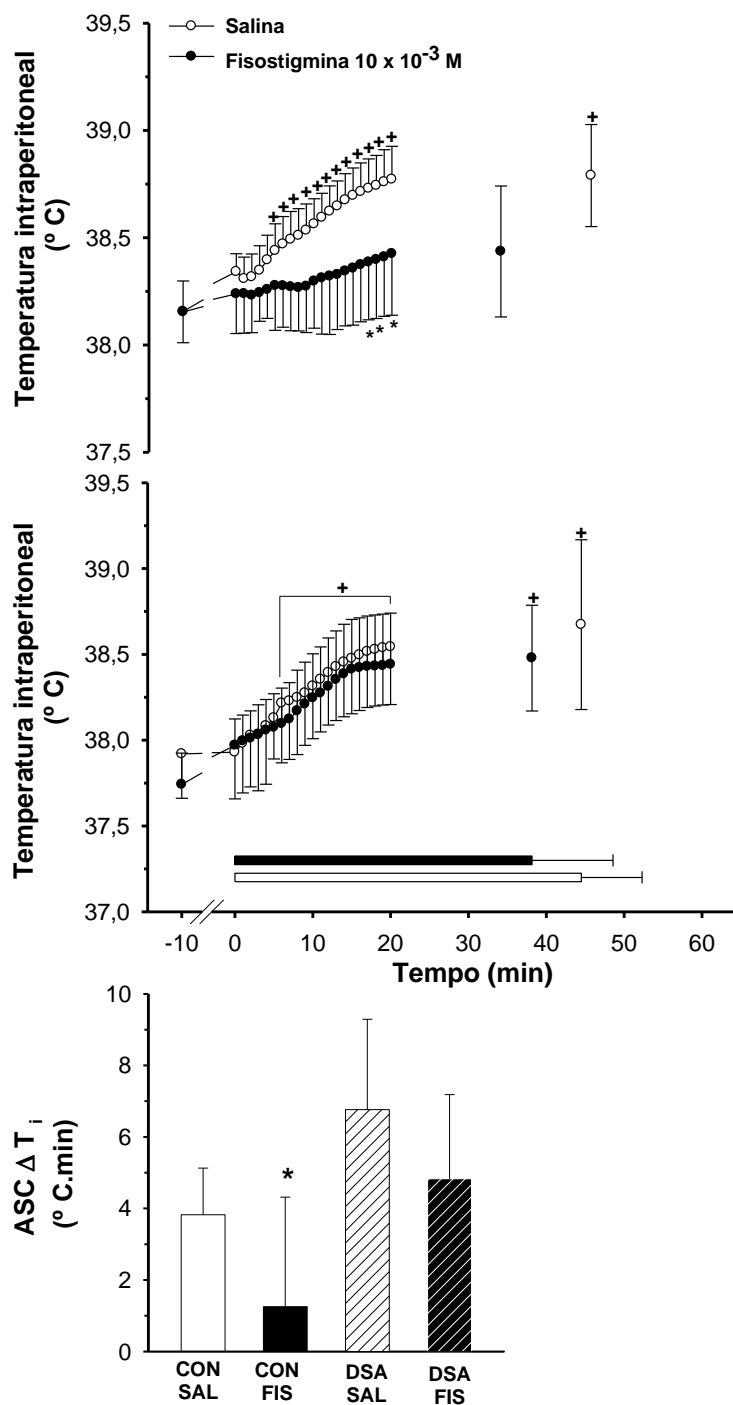


**Figura 24.** Temperatura da pele da cauda de ratos submetidos à cirurgia fictícia (CON) [ $n = 5$ ] (**A**) ou a desnervação sino-aórtica crônica [ $n = 6$ ] (**B**) durante o exercício realizado até a fadiga (18 m/min e 5 % de inclinação). No painel (**C**) estão representadas as áreas sob curva (ASC) durante os vinte minutos iniciais de exercício nos dois grupos. As barras horizontais representam o tempo total de exercício até a fadiga e o ultimo ponto de cada grupo o mostra o valor médio correspondente ao momento da fadiga. Os valores expressam média  $\pm$  EPM. +  $P < 0,05$  em relação ao minuto zero. \*  $P < 0,05$  em relação ao grupo salina.

A figura 25 mostra os efeitos da injeção icv de fisostigmina  $10 \times 10^{-3}$  M sobre a temperatura intraperitoneal durante o exercício até a fadiga em ratos submetidos à DSA ou à cirurgia fictícia.

O exercício aumentou a  $T_{int}$  do grupo CON SAL a partir do sexto minuto de exercício que permaneceu elevada até o momento da fadiga. A injeção icv de fisostigmina bloqueou o aumento da  $T_{int}$  quando comparada à injeção de icv de salina no grupo CON ( $38,39 \pm 0,28^\circ$  C FIS vs.  $38,75 \pm 0,15^\circ$  C SAL,  $P < 0,05$ ; Figura 25A). No grupo DSA a injeção não alterou a  $T_{int}$  em comparação à injeção de salina ( $38,45 \pm 0,30^\circ$  C FIS vs.  $38,54 \pm 0,34^\circ$  C SAL, Figura 25B). A área sob a curva do grupo CON FIS foi menor quando comparada ao grupo CON SAL ( $1,26 \pm 3,06^\circ$  C·min CON FIS vs.  $3,83 \pm 1,30^\circ$  C·min SAL,  $P < 0,05$ ; Figura 25C). No entanto, não houve diferenças entre os grupos DSA FIS vs. DSA SAL e DSA FIS vs CON FIS (Figura 25C).





**Figura 25.** Temperatura intraperitoneal de ratos submetidos à cirurgia fictícia (CON) [ $n = 5$ ] (A) ou a desnervação sino-aórtica crônica [ $n = 6$ ] (B) durante o exercício realizado até a fadiga (18 m/min e 5 % de inclinação). No painel (C) estão representadas as áreas sob curva (ASC) durante os vinte minutos iniciais de exercício nos dois grupos. As barras horizontais representam o tempo total de exercício até a fadiga e o último ponto de cada grupo mostra o valor médio correspondente ao momento da fadiga. Os valores expressam média  $\pm$  EPM. +  $P < 0,05$  em relação ao minuto zero. \*  $P < 0,05$  em relação ao grupo salina.

### **3.3.2 Teste da sensibilidade barorreflexa (terceira situação experimental)**

A tabela 6 mostra a variação da pressão arterial média e da frequência cardíaca em resposta à injeção intravenosa de fenilefrina e nitroprussiato de sódio nos ratos submetidos à DSA ou a cirurgia fictícia na terceira situação experimental. Como na segunda situação experimental a DSA foi efetiva, abolindo as alterações reflexas da frequência cardíaca tanto em resposta à injeção intravenosa de fenilefrina quanto a injeção de nitroprussiato de sódio.

**Tabela 6.** Teste da sensibilidade barorreflexa em ratos submetido à cirurgia fictícia ou a desnervação sino-aórtica crônica (DSA).

	CON (n = 5)	DSA (n = 6)
	<i>Fenilefrina</i>	<i>Fenilefrina</i>
Δ PAM (mmHg)	22 ± 3	40 ± 5 *
Δ FC (bpm)	- 44 ± 5	- 3 ± 6 *
Δ FC/Δ PAM (bpm/mmHg)	-1,96 ± 0,14	- 0,07 ± 0,12 (96%) *
	<i>Nitroprussiato</i>	<i>Nitroprussiato</i>
Δ PAM (mmHg)	-27 ± 2	-38 ± 5
Δ FC (bpm)	48 ± 5	4 ± 2 *
Δ FC/Δ PAM (bpm/mmHg)	-1,84 ± 0,21	-0,10 ± 0,05 (95%) *

Varição da pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) após a infusão i.v. de fenilefrina (1 - 5µg/mL em 0,1 mL de salina) e nitroprussiato de sódio (2,5 - 5µg/mL em 0,1 mL de salina). A sensibilidade barorreflexa foi calculada como a razão entre a variação (Δ) da frequência cardíaca em resposta à variação da pressão arterial média. Os valores expressam média ± EPM; os dados entre parênteses indicam o percentual de redução da sensibilidade baroreflexa em relação ao grupo CON. \*  $P < 0,05$  em comparação ao grupo CON.

## **5. DISCUSSÃO**

### **5.1 Efeitos dose-dependentes da estimulação colinérgica central sobre a termorregulação durante o exercício**

O presente estudo mostrou que os efeitos da estimulação dos receptores colinérgicos centrais sobre as variáveis cardiovasculares e termorregulatórias durante o exercício são dose-dependentes. A estimulação colinérgica provocou maior resposta da pressão arterial ao exercício (Figura 10), atenuação do aumento da frequência cardíaca (Figura 11) e aumento da dissipação de calor (Figura 12A) com conseqüente atenuação do aumento da temperatura corporal interna induzida pelo exercício (Figura 12B). Esses efeitos foram dependentes da concentração de fisostigmina injetada centralmente. Como esperado o aumento da dissipação de calor foi precedido pelo aumento exacerbado da pressão arterial e atenuação do aumento da frequência cardíaca, sugerindo uma possível participação do barorreflexo arterial na mediação dessas respostas. De acordo com essa hipótese foi encontrada uma correlação negativa entre a variação da frequência cardíaca e a variação da temperatura da pele da cauda durante o exercício (Figura 14B).

O tempo total de exercício após a injeção icv de fisostimina na concentração  $40 \times 10^{-3}$  M (FIS 40) foi menor quando comparado às injeções de fisostimina nas concentrações  $5 \times 10^{-3}$  M (FIS 5),  $10 \times 10^{-3}$  M (FIS 10) ou salina (Figura 9). Estes dados mostram que a injeção de fis 40 reduziu drasticamente a capacidade dos animais em realizar o exercício e não provocou aumentos adicionais na pressão arterial e dissipação de calor. Provavelmente esta concentração ultrapassou o limite fisiológico afetando o comando central para o

exercício ou a percepção de sua intensidade. Em função disso as análises dos efeitos da estimulação colinérgica central sobre as variáveis cardiovasculares e termorregulatórias foram realizadas a partir dos dados dos grupos FIS 5 e FIS 10.

Estudos farmacológicos e imunohistoquímicos têm sugerido que o aumento da pressão arterial induzido de injeção icv de agonistas colinérgicos é mediado pela ativação de receptores na região do hipotálamo. Li et al. (30) mostraram que a injeção icv de nesotigmina em ratos acordados aumentou a pressão arterial, sendo que esta resposta correlacionou-se com o aumento na imunorreatividade da *c-fos* nos núcleos posteriores, paraventriculares e supra-ópticos do hipotálamo. Palma et al. (49) também mostraram que a injeção de fisostigmina no hipotálamo posterior aumenta a pressão arterial de ratos movimentando-se livremente. Essa modulação cardiovascular resulta da estimulação dos receptores muscarínicos, uma vez que a injeção prévia de atropina inibe o aumento da pressão arterial em resposta à estimulação colinérgica central (26, 35).

Existem evidências que os efeitos da estimulação colinérgica realizada por meio de anticolinesterásicos são também mediados por neurônios bulbares. Giuliano et al. (15) mostraram que a lesão eletrolítica da área C1 localizada no bulbo ventrolateral rostral inibiu o aumento da pressão arterial induzido pela injeção intravenosa de fisostigmina em ratos anestesiados. Além disso, a injeção de fisostigmina ou carbacol no bulbo ventrolateral rostral e nos núcleos dorsais da formação reticular provocou aumento da pressão arterial de ratos anestesiados (75). É importante destacar que os núcleos reticulares ventrolaterais rostrais são definidos funcionalmente como o centro vasomotor e

existem projeções neuronais destes núcleos até a coluna de células intermediolaterais da medula espinhal, que é a principal origem das fibras simpáticas na medula espinhal (26).

Resultados de estudos anteriores de nosso laboratório (27, 50) e do presente estudo fornecem evidências que a estimulação dos receptores colinérgicos centrais aumentam a pressão de perfusão sangüínea provavelmente por meio de uma maior atividade simpática cardíaca aumentando a força de contração do miocárdio, como verificado pelo aumento da pressão arterial sistólica (Figura 10A) e por possível aumento da atividade simpática para os vasos sangüíneos viscerais, como evidenciado pelo aumento da pressão arterial diastólica (Figura 10B). Esses dados estão de acordo com estudos mostrando que a resposta pressora induzida pela injeção icv de anti-colinesterásicos é mediada pelo aumento da eferência simpática ao coração e vasos esplâncnicos. Gotoh e Smythe (18) mostraram que a injeção icv de neostigmina aumenta a atividade simpática cardíaca em ratos em repouso. Willette et al. (75) verificaram um aumento na atividade simpática esplâncnica após a injeção de fisostigmina ou carbacol no bulbo ventrolateral rostral. A administração sistêmica de fisostigmina provocou aumento da atividade simpática esplâncnica em ratos anestesiados, que foi abolido pela lesão eletrolítica da área C1 no bulbo ventrolateral. A atividade simpato-adrenal não é essencial para desencadear os efeitos da injeção icv de fisostigmina. Isso porque estudos anteriores têm mostrado que a adrenodemedulação não altera as respostas cardiovasculares (27) e termorregulatórias (57) induzidas pela estimulação colinérgica durante o exercício em ratos.

No presente estudo, a variação da frequência cardíaca durante o exercício foi menor após as injeções centrais de fisostigmina quando comparadas ao controle (Figura 11). Esta menor variação reflete uma atenuação do aumento da atividade simpática cardíaca ou um aumento da atividade parassimpática para o nodo sinusal durante o exercício, e o aumento da pressão arterial sistólica sugere aumento da atividade simpática para o miocárdio. Existem dados na literatura mostrando que vias neuronais específicas controlam seletivamente a atividade simpática que regula a frequência cardíaca e a força de contração do miocárdio (47). Experimentos com animais em repouso sugerem que a resposta da frequência cardíaca à injeção icv de anti-colinesterásicos é mediada pelo barorreflexo em função do aumento da pressão arterial induzida pela estimulação central. A injeção icv de fisostigmina diminui a frequência cardíaca de ratos em repouso, que é precedida por aumento da pressão arterial (1, 50). A desnervação dos barorreceptores aórticos e carotídeos inibe a bradicardia induzida pela injeção icv de neostigmina (69). Nossos dados mostram algumas evidências que esta mediação barorreflexa da resposta da frequência cardíaca também ocorre durante o exercício. A variação da pressão arterial média correlacionou-se negativamente com a variação da frequência cardíaca (Figura 14A). Durante o exercício o ponto de ajuste do barorreflexo é reajustado a maiores valores de pressão arterial (10). Portanto, no início do exercício ocorre diminuição da atividade parassimpática e aumento da atividade simpática cardíaca aumentando a frequência cardíaca, volume de ejeção e conseqüentemente a pressão arterial. Entretanto se um aumento acima da necessidade de perfusão tecidual ocorre este é contraposto pelo barorreflexo (61). A partir desse

raciocínio, nossos dados sugerem que o aumento exacerbado da pressão arterial durante o exercício induzido pelas injeções centrais de fisostigmina foi detectado pelos barorreceptores diminuindo a atividade simpática ou aumentando a atividade parassimpática para o nodo sinusal como compensação. De fato durante o exercício sob a estimulação colinérgica à medida que a pressão arterial diminuiu a frequência cardíaca aumenta e no momento da fadiga não foram encontradas diferenças nestas variáveis (Figuras 2 e 3).

No presente estudo, a temperatura da pele aumentou gradativamente e alcançou a estabilidade ao redor do décimo minuto de exercício, indicando uma diminuição da atividade simpática. Esta diminuição ocorre predominantemente em função do aumento da temperatura do sangue que perfunde os neurônios termossensíveis da região hipotalâmica, o que estimula as vias eferas responsáveis pela dissipação de calor (48). O aumento do fluxo sanguíneo cutâneo na cauda dos ratos é o principal mecanismo de dissipação de calor durante o exercício (64), entretanto quando dilatada a cauda recebe um significativo percentual do débito cardíaco (45). Portanto os ajustes circulatórios na cauda são importantes tanto para a homeostase cardiovascular quanto termorregulatória. O aumento da temperatura da pele da cauda ocorreu a partir do segundo minuto de exercício nos ratos submetidos à injeção icv de fisostigmina (Figura 12A), indicando uma antecipação da diminuição da atividade simpática para os vasos da cauda. Entretanto a temperatura interna permaneceu inalterada durante os vinte minutos iniciais de exercício (Figura 12B) e os ratos não acumularam calor até o início da vasodilatação, mostrando que o aumento da temperatura da pele não foi decorrente de um estímulo



térmico. Em nosso estudo prévio (50) foi sugerido que a maior temperatura da pele da cauda durante o exercício após a injeção icv de fisostigmina refletiu a capacidade do coração em aumentar o débito cardíaco embora a resistência nos grandes leitos vasculares estivesse aumentada, incluindo os vasos da cauda. Essa hipótese foi sugerida porque injeção central de fisostigmina aumentou simultaneamente a temperatura da pele da cauda e a pressão arterial diastólica durante o exercício. Por outro lado, o aumento da temperatura da pele da cauda foi precedido pelo aumento da pressão arterial e atenuação do aumento da frequência cardíaca sugerindo que o maior fluxo sanguíneo na cauda pode ser decorrente de uma vasodilatação mediada pela estimulação dos barorreceptores. No presente estudo, foram encontradas evidências que sustentam tal hipótese. A variação da temperatura da pele da cauda correlacionou-se negativamente com a variação da frequência cardíaca ( $r = -0,52$ ;  $P < 0,001$ ).

Em função do aumento da dissipação de calor produzido, a temperatura interna (Figura 12B) e a taxa de acúmulo de calor (Figura 13) durante o exercício foram menores após estimulação colinérgica central. Este efeito não é atribuído a alterações na produção de calor, pois Rodrigues et al. (56) mostraram que a injeção icv de fisostigmina não modificou o consumo de oxigênio em ratos correndo em esteira rolante a 20m/min. Como mostrado no presente estudo o aumento temperatura da pele da cauda precedeu a atenuação do aumento da temperatura interna (Figura 12B; grupo FIS 10). O rato dissipa o calor metabólico através do aumento do fluxo sanguíneo na cauda, espalhando saliva pelo corpo e através da respiração (17). O animal é incapaz de espalhar saliva em função da atividade motora, portanto o aumento

do fluxo na cauda é o principal mecanismo de perda de calor durante a atividade física (64). Embora possíveis alterações ventilatórias possam contribuir para a maior dissipação de calor induzida pela estimulação colinérgica central.

Embora os dados presentes forneçam evidências da participação do barorreflexo, ainda persiste a dúvida se os efeitos da estimulação colinérgica central sobre a termorregulação durante o exercício ocorrem em função de um débito cardíaco aumentado, como sugerido em nosso estudo prévio, ou se estes ocorrem em resposta à maior estimulação dos barorreceptores arteriais devido ao aumento exacerbado da pressão arterial resultando em aumento da temperatura da pele da cauda. Para avaliar a possível influência do barorreflexo, a desnervação sino-aórtica crônica foi utilizada como metodologia experimental.

## ***5.2 Desnervação sino-aórtica crônica como metodologia de estudo dos efeitos da estimulação colinérgica central sobre a termorregulação durante o exercício***

No presente estudo, a DSA foi utilizada como uma ferramenta experimental com o objetivo de avaliar a participação da atividade dos barorreceptores nos efeitos produzidos pela injeção icv de fisostigmina sobre a termorregulação. Este procedimento vem sendo utilizado no estudo da regulação cardiovascular (9, 37, 62, 63, 70) e termorregulatória (23, 38) em ratos em repouso e submetidos ao exercício físico. A DSA consiste da secção cirúrgica dos nervos que conduzem os sinais aferentes provenientes da estimulação dos barorreceptores arteriais (7). A partir desta técnica foi possível avaliar as respostas desencadeadas pela estimulação colinérgica central sem que a estimulação dos barorreceptores as influenciasse, uma vez que as aferências destes receptores foram interrompidas. Inicialmente os efeitos da DSA sobre os ajustes cardiovasculares e termorregulatórios induzidos pelo exercício foram avaliados.

A DSA induziu maiores respostas da pressão arterial e da frequência cardíaca ao exercício (Figura 16 e 17A). Entretanto a variação da frequência cardíaca em resposta ao exercício não foi diferente dos ratos controles (Figura 17B), uma vez que os valores basais da frequência cardíaca foram maiores nos ratos desnervados. Estas respostas foram demonstradas previamente em experimentos nos quais métodos semelhantes foram utilizados (70).

Esses dados confirmam o bem estabelecido conceito de que o barorreflexo permanece funcional durante o exercício limitando o aumento da

pressão arterial acima da necessidade de perfusão (60). A maior frequência cardíaca de repouso reflete um tônus parassimpático diminuído para o coração em função da ausência da atividade aferente dos barorreceptores que ocorre provavelmente devido a uma diminuição da sensibilidade dos receptores muscarínicos cardíacos (11). A ausência de diferença entre os ratos desnervados e controles na variação da frequência cardíaca em resposta ao exercício (Figura 17B) mostra que o ajuste desta variável é determinado centralmente (25).

O principal achado da segunda série de experimentos foi que a DSA aumentou a taxa de elevação da temperatura corporal e a temperatura da pele da cauda durante o exercício. Como a dissipação de calor foi maior nos ratos desnervados provavelmente o aumento da taxa de elevação da temperatura nos 25 min iniciais de exercício deve-se a uma maior produção de calor. É possível que a eficiência mecânica esteja diminuída nesses animais e a medida do consumo de oxigênio esclareceria esse dado. A maior temperatura da pele da cauda nos ratos desnervados ocorreu provavelmente devido ao maior estímulo térmico uma vez que a taxa de elevação da temperatura corporal foi maior neste grupo e correlacionou-se positivamente com a temperatura da pele ( $r = 0,73$ ;  $P = 0,016$ ).

Uma outra hipótese para explicar a maior temperatura da pele da cauda nos animais desnervados é associar esse resultado às alterações da resposta cardiovascular. O aumento da pressão arterial sistólica e frequência cardíaca foram maiores nos ratos desnervados (Figura 16B) e isso sugere um maior aumento do débito cardíaco nesses animais. Esse maior débito cardíaco provavelmente não foi direcionado para as vísceras, uma vez que a pressão

arterial diastólica não foi diferente entre os grupos (Figura 16C). O maior débito cardíaco, portanto deve ter sido direcionado para os músculos e vasos cutâneos promovendo aumento do fluxo sanguíneo nesses leitos vasculares e consequentemente da temperatura da pele. De fato, no presente experimento foi encontrada uma correlação positiva entre a pressão arterial sistólica e a temperatura da cauda dos ratos desnervados e controles durante o exercício ( $r = 0,58$ ;  $P < 0,05$ ). Essa hipótese corrobora os resultados de Kregel et al. (23) que verificou a redução da tolerância térmica à exposição a uma temperatura ambiente de 42° C após a DSA. A tolerância térmica foi definida por esses autores como a taxa de elevação da temperatura interna. Simultaneamente à diminuição da tolerância térmica as respostas cardiovasculares estavam exacerbadas, sendo observados maiores aumentos da pressão arterial média, frequência cardíaca, resistência mesentérica e renal nos ratos desnervados. Os autores concluíram que os barorreceptores influenciam a tolerância térmica durante a exposição ao calor provavelmente devido aos seus efeitos indiretos sobre a pressão arterial e débito cardíaco.

Em função dos efeitos da DSA sobre a termorregulação, a análise da participação dos barorreceptores sobre as respostas à estimulação colinérgica central foi realizada em animais submetidos à cirurgia sham ou a DSA. Esse delineamento experimental permitiu separar os efeitos do exercício, da desnervação e da estimulação colinérgica central, uma vez que os efeitos da DSA sobre a atividade autonômica se somam aos efeitos da injeção icv de fisostigmina.

### **5.3 *Mediação barorreflexa da dissipação de calor induzida pela estimulação colinérgica central***

No presente estudo a DSA bloqueou o aumento da dissipação de calor (Figura 24) e, conseqüentemente eliminou a atenuação do aumento da temperatura interna induzido pela estimulação colinérgica central durante o exercício (Figura 25). O bloqueio dos efeitos da estimulação colinérgica central sobre a termorregulação ocorreu simultaneamente ao bloqueio da atenuação do aumento da freqüência cardíaca induzido pela injeção icv de fisostigmina (Figura 23), embora o aumento da pressão de perfusão provocado pela injeção central de fisostigmina tenha sido maior nos animais desnervados quando comparados aos animais controles (Figura 20). Esses resultados confirmam que os efeitos da estimulação colinérgica central sobre a termorregulação são mediados pelo barorreflexo arterial. A questão principal levantada é uma possível modulação da atividade simpática dos vasos da cauda durante o exercício mediada pela estimulação dos barorreceptores arteriais.

Nossa hipótese de uma modulação barorreflexa do fluxo sangüíneo cutâneo durante o exercício é sustentada por resultados de estudos prévios que mostraram a participação dos barorreceptores nos mecanismos de dissipação de calor. Para investigar a participação do barorreflexo no controle da temperatura corporal Zhang et al. (78) examinaram os efeitos de alterações de pressão na região do seio carotídeo sobre a temperatura da pele da cauda de ratos anestesiados. Para garantir que apenas a influência dos barorreceptores carotídeos estava sendo estudada, os nervos vago e depressor aórtico foram seccionados e os seios carotídeos foram isolados.

Subseqüentemente a pressão no seio carotídeo foi aumentada gradativamente e, em resposta a essas alterações, a pressão arterial sistêmica, a frequência cardíaca e a temperatura interna diminuíram, enquanto a temperatura da pele da cauda aumentou. Para verificar se estas respostas eram mediadas pela atividade simpática eferente, os autores examinaram os efeitos da injeção intravenosa dos antagonistas adrenérgicos bretilio e hexametônio. Após a administração dos antagonistas as respostas à estimulação dos barorreceptores carotídeos foram completamente abolidas.

O'Leary e Jonhson (44) estudaram a participação do barorreflexo sobre a circulação da cauda em ratos anestesiados em condições de normotermia e hipertermia por meio de uma técnica de fluxo sanguíneo constante, onde a artéria caudal de um animal foi interligada como um ramificação da aorta de um animal doador produzindo um circuito com perfusão constante. Em condições de normotermia, a infusão intravenosa de fenilefrina provocou aumento médio de 61 mmHg na pressão arterial média e induziu uma diminuição reflexa na pressão de perfusão da cauda. Quando diminuições graduadas na pressão arterial média foram produzidas, houve vasoconstrição da cauda. Em uma segunda situação experimental, em animais conscientes, o fluxo sanguíneo na cauda foi medido por meio de pletismografia de oclusão venosa e diminuições graduadas na pressão arterial foram produzidas através de hemorragia. Em resposta às diminuições da pressão arterial, ocorreram diminuições na condutância vascular da cauda. Para verificar se a atividade das fibras simpáticas que inervam a veia lateral e a artéria ventral da cauda é influenciada pela atividade aferente dos barorreceptores, Johnson e Gilbey (20) isolaram e estimularam o nervo aórtico de ratos. Dentre outras respostas foi mostrado que

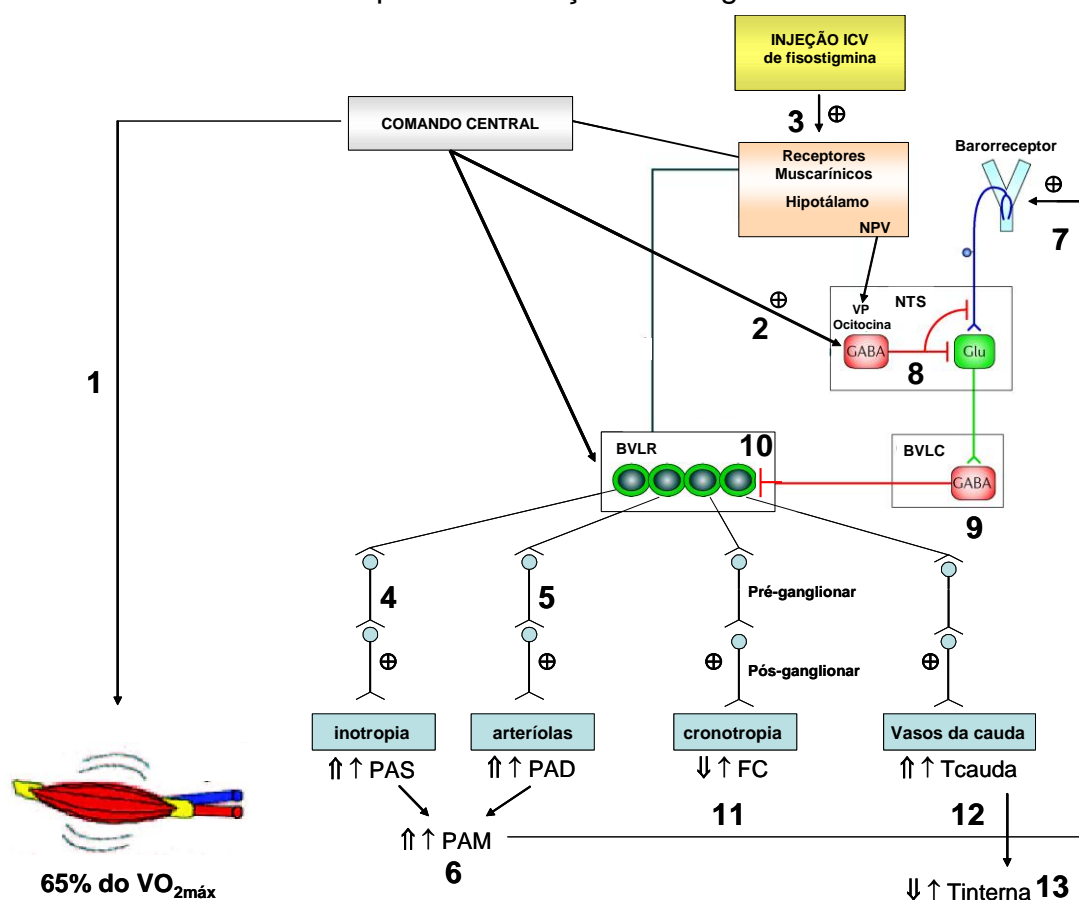
a estimulação do nervo aórtico foi acompanhada por diminuição da probabilidade de descarga dos neurônios pós-ganglionares tanto da veia lateral quanto da artéria ventral, sugerindo que a atividade simpática nesses locais pode ser influenciada pela atividade dos barorreceptores.

Tendo como base os dados dos experimentos realizados em ratos anestesiados e acordados, os resultados encontrados neste estudo fornecem evidências diretas que a atividade simpática dos vasos sanguíneos da cauda durante o exercício é também influenciada pela atividade barorreflexa. Entretanto para melhor esclarecer os mecanismos pelos quais esta modulação ocorre durante o exercício é necessário a realização de mais experimentos com medida direta da atividade simpática para os vasos da cauda ou estimativa a partir técnicas que interrompam seletivamente esta atividade.

A hipótese que o aumento da temperatura da pele da cauda durante o exercício após a estimulação colinérgica central ocorre em função de um débito cardíaco aumentado é contraposto pelos dados do presente estudo. A injeção icv de fisostigmina em ratos submetidos à DSA provocou um aumento 157% maior na pressão arterial sistólica quando comparado aos animais controles ( $\Delta 59 \pm 12$  mmHg DSA-FIS vs.  $\Delta 23 \pm 4$  mmHg DSA-SAL, no décimo minuto de exercício;  $P < 0,02$ ). Este maior aumento da pressão arterial sistólica nos ratos desnervados sugere maior débito cardíaco nesses animais. Por outro lado, mesmo com as diferenças citadas na pressão arterial sistólica, a temperatura da pele da cauda não foi diferente nos ratos desnervados submetidos à injeção icv de fisostigmina quando comparados à injeção de salina.



A partir dos resultados do presente de estudo e de estudos prévios, nós propomos o seguinte mecanismo para explicar as respostas termorregulatórias e cardiovasculares induzidas pela estimulação colinérgica central.



**Figura 18.** Mecanismo hipotético dos efeitos da estimulação colinérgica central sobre o sistema cardiovascular e termorregulatório durante o exercício físico. **1)** O exercício é iniciado a partir da ativação paralela dos centros cerebrais controlando o movimento e o sistema cardiovascular (comando central). **2)** O ponto de ajuste do barorreflexo é reajustado a partir do comando central para o exercício por meio de mecanismos gabaérgicos e pela modulação vasopressinérgica (VP) e ocitocinérgica mediadas pelo núcleo paraventricular hipotalâmico (NPV). **3)** A injeção icv de fisostigmina ativa os receptores muscarínicos hipotâmicos aumentando a inibição bulbar sobre a atividade simpática cardíaca (inotrópica) e vasos de resistência. **4)** A maior ativação simpática para o miocárdio resulta em aumento da pressão arterial sistólica (PAS), **5)** enquanto a maior atividade simpática para os vasos viscerais em aumento da pressão arterial diastólica (PAD). **6)** Juntos estes aumentos resultam em aumento da pressão de pressão arterial média (PAM) acima da necessidade de perfusão tecidual, **7)** aumentando a ativação dos barorreceptores arteriais. **8)** Esta estimulação aumenta a atividade dos neurônios glutamatérgicos (Glu) do núcleo do trato solitário (NTS), **9)** que por sua vez aumenta a atividade GABAérgica (GABA) no bulbo ventrolateral caudal (BVLC), **10)** aumentando a atividade glutamatérgica no Bulbo ventrolateral rostral (BVLR). **11)** Como resultado a atividade simpática cardíaca (cronotrópica) e a **12)** atividade simpática para os vasos da cauda são atenuadas como mostrado pela menor frequência cardíaca e maior temperatura da pele da cauda após a estimulação colinérgica central. **13)** A maior temperatura da pele resulta em maior dissipação de calor durante o exercício consequentemente o aumento da temperatura corporal induzido pelo exercício é atenuado. ⊕ estimulação; ↑ aumento; ↓ diminuição; ↑↑ resposta exacerbada após a injeção icv de fisostigmina; ↓↓ atenuação da resposta após a injeção icv de fisostigmina.

O reajuste do ponto de operação do barorreflexo em função da ativação do comando central foi mostrado em estudos (36, 71) nos quais o reajuste ocorreu após a estimulação da região mesencefálica locomotora (uma área potencialmente envolvida no comando central). Potts et al. (51) mostraram que contrações musculares induzidas eletricamente para estimular aferências somáticas atenuou a bradicardia reflexa por meio de mecanismos GABAérgicos no núcleo do trato solitário. O reajuste do barorreflexo também envolve a modulação da atividade vasopressinérgica e ocitocinérgica mediadas pelo núcleo paraventricular hipotalâmico. Como descrito anteriormente, a injeção icv de fisostigmina no ventrículo lateral estimula os receptores muscarínicos hipotalâmicos, modulando a neurotransmissão no bulbo ventrolateral rostral que resulta em aumento da atividade simpática para o miocárdio e vasos sanguíneos esplâncnicos.

No nosso modelo hipotético, a estimulação dos barorreceptores em função do aumento da pressão arterial média modula a atividade dos neurotransmissores inibitórios no núcleo do trato solitário, bulbo ventrolateral caudal e rostral. Os dados do presente estudo não fornecem qualquer evidência se esses mecanismos estão de fato ocorrendo. É importante enfatizar que o modelo hipotético apresenta resumidamente os mecanismos centrais envolvidos na modulação barorreflexa da atividade simpática. Além disso, o mecanismo aqui proposto foi baseado na literatura referente a estudos com animais anestesiados ou em repouso. Esses estudos mostram que núcleo do trato solitário é o local de integração da atividade aferente dos barorreceptores e que deste existem projeções para o bulbo ventrolateral caudal e deste último existem projeções para o bulbo ventrolateral rostral (19).

A estimulação dos barorreceptores de acordo com o nosso modelo resulta em aumento da atividade inibitória do bulbo ventrolateral rostral sobre a atividade simpática para o nodo sinusal e para os vasos da cauda após a estimulação colinérgica central. A evidência que o presente estudo fornece para sustentar estas afirmações é que a ausência da atividade aferente dos barorreceptores induzida pela DSA inibiu a atenuação da frequência cardíaca durante o exercício em resposta à estimulação colinérgica central mesmo com aumento médio da pressão arterial de 40 mmHg acima dos valores de controle (Figura 20).

Entretanto no modelo proposto existe uma via específica controlando a atividade autonômica para os vasos da cauda permitindo que simultaneamente ao aumento da resistência em outros leitos vasculares como o esplâncnico e o renal a cauda esteja vasodilatada. De acordo com essa hipótese, recentemente Cham e Badoer (6) mostraram que em ratos anestesiados o fluxo sanguíneo e condutância renal diminuem em função do aumento da temperatura interna com aumento simultâneo do aumento da temperatura da pele da cauda. Essas alterações ocorreram sem qualquer modificação dos valores da pressão arterial média e frequência cardíaca e foram eliminadas pela injeção de muscimol no núcleo paraventricular hipotalâmico (NPV). Os autores propuseram que o NVP está integrado a área pré-óptica e que do NVP existem projeções para a coluna intermédia lateral da medula espinhal e/ou para áreas pressoras no bulbo ventrolateral rostral.

Nossos dados apontam para um possível controle seletivo da atividade simpática dos vasos da cauda durante o exercício mediado pelos barorreceptores arteriais, entretanto estudos adicionais com metodologia que

forneça índices simultâneos da atividade simpática para os vasos da cauda, vísceras e coração são necessários.

## **6. Conclusões**

A) Durante o exercício físico o barorreflexo arterial participa dos ajustes termorregulatórios induzidos pela estimulação colinérgica central.

B) Durante o exercício físico a termorregulação é mediada pelos barorreceptores arteriais.

## 7. REFERÊNCIAS

1. Buccafusco JJ. The Role of Central Cholinergic Neurons in the Regulation of Blood Pressure and in Experimental Hypertension. *Pharmacological Reviews* 48: 179-211, 1996.
2. Burger HR, Chandler MP, Rodenbaugh DW, Dicarlo SE. Dynamic exercise shifts the operating point and reduces the gain of the arterial baroreflex in rats. *Am J Physiol Integr Comp Physiol* 275: 2043-2048, 1998.
3. Caputa M, Kamari A. Exercise performance of normothermic and hyperthermic rats: Effect of warm rearing. *J Therm Biol* 16: 363-366, 1991.
4. Caputa M, Wasilewska E, Swiecka E. Hyperthermia and exercise performance in guinea-pigs (*Cavia porcellus*). *J Therm Biol* 10: 217-220, 1985.
5. Carter III R, Chevront SN, Willians JO, Kolka MA, Stephenson LA, Sawka MN, Amoroso PJ. Epidemiology of hospitalizations and deaths from heat illness in soldiers. *Med Sci Sports Exerc* 37: 1338-1344, 2005.
6. Cham JJ e Badoer E. Hypothalamic paraventricular nucleus is critical for renal vasoconstriction elicited by elevations in body temperature. *Am J Physiol Renal Physiol* 294: F309-R315, 2008.
7. Chan RKW, Jarvina EV e Sawchenko PE. Effects of selective sinoaortic denervation on phenylephrine-induced activational responses in the nucleus of the solitary tract. *Neuroscience* 101: 165-178, 2000.
8. Cheung SS, Sleivert GG. Multiple triggers for hyperthermic fatigue and exhaustion. *Exerc Sport Sci Rev* 32: 100-106, 2004.
9. Collins HL, Kim JK, DiCarlo SE. Sino-aortic denervation alters the hemodynamic response to exercise in hypertensive rats. *Clin Exp Hypertens* 23: 657-66, 2001.

10. Dicarlo SE, Bishop VS. Onset of exercise shifts operating point of arterial baroreflex to higher pressures. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 262: H303-H307, 1992.
11. Franchini KG, Krieger EM. Bradycardic responses to vagal stimulation and methacholine injection in sinoaortic denervated rats. *Braz J Med Biol Res* 22: 757-760, 1989.
12. Franchini KG, Krieger EM. Carotid chemoreceptors influence arterial pressure in intact and aortic-denervated rats. *Am J Physiol Integr Comp Physiol* 262: R677-R683, 1992.
13. Fuller A, Carter RN, Mitchell D. Brain and abdominal temperatures at fatigue in rats exercising in the heat. *J Appl Physiol* 87: 877-883, 1998.
14. Gandevia SC, Killian K, McKenzie DK et al. Respiratory sensations, cardiovascular control, kinaesthesia and transcranial stimulation during paralysis in humans. *J Physiol* 470: 85–107, 1993.
15. Giuliano R, Ruggero DA, Morrison S, Ernsberger P e Reis DJ. Cholinergic regulation of arterial pressure by C1 area of the rostral ventrolateral medulla. *The Journal of Neuroscience* 9: 923-942, 1989.
16. González-Alonso J, Teller C, Andersen SL, Jensen FB, Hyldig T, Nielsen B. Influence of body temperature on the development of fatigue during prolonged exercise in the heat. *J Appl Physiol* 86: 1032-1039, 1999.
17. Gordon CJ. Temperature Regulation in Laboratory Rodents. Cambridge, UK: Cambridge University Press, p. 8-11, 1993.
18. Gotoh M e Smythe GA. Effects of intracerebroventricularly administered neostigmine on sympathetic neural activities of peripheral tissues in rats. *Brain Research* 548: 326-328, 1991.

19. Guyenet PG. The sympathetic control of blood pressure. *Nature reviews*. 7: 335-346, 2006.
20. Johnson CD e Gilbey MP. Effects of aortic nerve stimulation on discharges of sympathetic neurons innervating rat tail artery and vein. *Am J Physiol Integr Comp Physiol* 275: R942-R949, 1998.
21. Joyner MJ. Baroreceptor function during exercise: resetting the record. *Exp Physiol* 91: 27–36, 2006.
22. Hagiwara Y, Kubo T. Intracerebroventricular injection of losartan inhibits angiotensin II-sensitive neurons via GABA inputs in the anterior hypothalamic area of rats. *Neurosci Lett* 416: 150-154, 2007.
23. Kregel KC, Johnson DG, Tipton CM e Seals DR. Arterial baroreceptor reflex modulation of sympathetic-cardiovascular adjustments to heat stress. *Hypertension* 15: 497-504, 1990.
24. Krieger EM. Neurogenic hypertension in the rat. *Circ Res* 15: 511-521, 1964.
25. Krieger EM, Brum PC, Negrão CE. Role of arterial baroreceptor function on cardiovascular adjustments to acute and chronic dynamic exercise. *Biol Res* 31: 273-9, 1998.
26. KUBO T. Cholinergic mechanism and blood pressure regulation in the central nervous system. *Brain Research Bulletin* 46: 475-481, 1998.
27. La Guardia RB. Sistema colinérgico central modula os ajustes dos sistemas cardiovascular e termorregulatório induzidos pelos exercício físico até a fadiga. *Dissertação apresentação ao programa de Pós-graduação em Ciências do Esporte da Universidade Federal de Minas Gerais*, 2008.

28. Lacerda ACR, Marubayashi U, Coimbra CC. Nitric oxide pathway is an important modulator of heat loss in rats during exercise. *Brain Res Bull* 67: 110-116, 2005.
29. Lacerda AC, Marubayashi U, Balthazar CH, Leite LH, Coimbra CC. Central nitric oxide inhibition modifies metabolic adjustments induced by exercise in rats. *Neurosci Lett* 410: 152-156, 2006.
30. Li J, Brezenoff HE e Tkacks NC. Identification of pressure regions activated by central cholinergic stimulation in rat brain. *European Journal of Pharmacology* 337: 227- 233, 1997.
31. Leite LH, Lacerda AC, Balthazar CH, Marubayashi U, Coimbra CC. Central AT(1) receptor blockade increases metabolic cost during exercise reducing mechanical efficiency and running performance in rats. *Neuropeptides* 41: 189-194, 2007.
32. Leite LH, Lacerda AC, Marubayashi U, Coimbra CC. Central angiotensin AT1-receptor blockade affects thermoregulation and running performance in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 291: R603-607, 2006.
33. Lima NRV, Coimbra CC, Marubayashi U. Effect of intracerebroventricular injection of atropine on metabolic responses during exercise in untrained rats. *Physiol Behav* 64: 69-74, 1998.
34. Lima NRV, Pereira W, Reis AM, Coimbra CC, Marubayashi U. Prolactin release during exercise in normal and adrenomedullated untrained rats submitted to central cholinergic blockade with atropine. *Horm Behav* 40: 526-532, 2001.



35. Litake K, Share L, Ouchi Y, Crofton JT e Brooks DP. Central cholinergic control of vasopressin release in conscious rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 251: E146-E150, 1986.
36. McIlveen Sa, Hayes SG e Kaufman MP. Both central command and exercise pressor reflex reset carotid sinus baroreflex. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 280: H1454-H1463, 2001.
37. Martínez-Nieves B, Collins HL, DiCarlo SE. Arterial baroreflex regulation of regional vascular conductance at rest and during exercise. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 278: R1634-R1642, 2000.
38. Matsuoka T, Dotta A e Mortola JP. Metabolic response to ambient temperature and hypoxia in sinoaortic-denervated rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 35: R387-R391, 1994.
39. Nagashima K, Nakai S, Tanaka M, Kanouse K. Neuronal circuitries involved in thermoregulation. *Auton Neurosci* 85: 18-25, 2000.
40. Newsholme EA, Blomstrand E, Ekblom B. Physical and mental fatigue: metabolic mechanisms and importance of plasma amino acids. *Br Med Bull* 48:477– 95, 1992.
41. Nielsen B, Hales JRS, Strange S, Christensen NJ, Warberg J, Saltin B. Human circulatory and thermoregulatory adaptations with heat acclimation and exercise in a hot, dry environment. *J Physiol* 460: 467-475, 1993.
42. Noakes TD. Physiological models to understand exercise fatigue and the adaptations that predict or enhance athletic performance. *Scand J Med Sci Sports* 10: 123-145, 2000.
43. Nybo L e Nielsen B. Hyperthermia and central fatigue during prolonged exercise in humans. *J Appl Physiol* 91: 1055-1060, 2001.

44. O'Leary DS, Johnson JM. Baroreflex control of the rat tail circulation in normothermia and hyperthermia. *J Appl Physiol* 1989; 66: 1234-1241.
45. O'Leary DS, Johnson JM, Taylor WF. Mode of neural control mediating rat tail vasodilation during heating. *J Appl Physiol* 59: 1533-1538, 1985.
46. O'Leary DS, Seamans DD. Effect of exercise on autonomic mechanisms of baroreflex control of heart rate. *J Appl Physiol* 75: 2251-2257, 1993.
47. Onuki N, Takahashi H, Suzuki H, Saito T, Maehara K, Maruyama Y. Dissociation of chronotropic and inotropic responses in the rat heart during sympathetic stimulation. *Jpn Circ J* 63: 710-717, 1999.
48. Owens NC, Ootsuka Y, Kanosue K, McAllen RM. Thermoregulatory control of sympathetic fibres supplying the rat's tail. *J Physiol* 543:849-858, 2002.
49. Palma E, Muscoli C, Mancuso E, Sculco F, Sacco I, Alecce W, Costa N, Colica C, Cristiano D, Rotiroti D e Mollace V. The role of nitrinergic connections in central cardiovascular responses mediated by physostigmine infused into posterior hypothalamus. *Neuroscience Letters* 368: 112-115, 2004.
50. Pires W, Wanner SP, La Guardia RB, Silveira SA, Rodrigues LOC, Coimbra CC, Marubayashi U, Lima NRV. Intracerebroventricular physostigmine enhances blood pressure and heat loss in running rats. *J Physiol Pharmacol* 58: 3-17, 2007.
51. Potts JT, Paton JFR, Mitchell JH, Garry MG, Kline G, Anguelov PT e Lee SM. Contraction-sensitive skeletal muscle afferents inhibit arterial baroreceptor signalling in the nucleus of the solitary tract: Role of intrinsic GABA interneurons. *Neuroscience* 119: 201-214: 2003.

52. Prímola-Gomes TN, Pires W, Rodrigues LOC, Coimbra CC, Marubayashi U, Lima NRV. Activation of the central cholinergic pathway increases post-exercise tail heat loss in rats. *Neurosci Lett* 413: 1-5, 2007.
53. Raman ER, Roberts MF, Vanhuyse VJ. Body temperature control of rat tail blood flow. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 245: R426-R432, 1983.
54. Resource Book for the Design of Animal Exercise Protocols. *American Physiology Society*, 2006.
55. Roberts WO. Death in the heat: can football heat stroke be prevented? *Curr Sports Med Rep* 3: 1-3, 2004.
56. Rodrigues AG, Lima NRV, Coimbra CC, Marubayashi U. Intracerebroventricular physostigmine facilitates heat loss mechanisms in running rats. *J Appl Physiol* 97: 333-338, 2004.
57. Rodrigues AG, Lima NRV, Coimbra CC, Marubayashi U. Evidence that exercise-induced heat storage is dependent on adrenomedullary secretion. *Physiol Behav* 94: 463-467, 2008.
58. Rodrigues LOC, Oliveira A, Lima NRV, Machado-Moreira CA. Heat storage rate and acute fatigue in rats. *Braz J Med Biol Res* 36: 131-135, 2003.
59. Rodrigues LOC e Silami-Garcia E. *Temas atuais III em Educação Física e Esportes*, capítulo Fadiga: falha ou proteção, pp 29-48. Editora Health, Belo Horizonte, 1998.
60. Rowell LB, O'leary DS. Reflex control of the circulation during exercise: chemoreflexes and mechanoreflex. *J Appl Physiol* 69: 407-418, 1990.
61. Rowell LB, Shepherd JT. Handbook of physiology, Section 12, Exercise: regulation and integration of multiple systems, American Physiological Society, Oxford University Press, 1996.

62. Schreihofe AM e Sved AF. Use of sinoaortic denervation to study the role of baroreceptors in cardiovascular regulation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 289: R1705-1710, 1994.
63. Schreihofe AM, Ito S e Sved AF. Brain stem control of arterial pressure in chronic arterial baroreceptor-denervated rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 289: R1746-1755, 2005.
64. Shellock FG, Rubin SA. Temperature regulation during treadmill exercise in the rat. *J Appl Physiol Respirat Environ Exercise Physiol* 57: 1872-1877, 1984.
65. Soares DD, Coimbra CC, Marubayashi U. Tryptophan-induced central fatigue in exercising rats is related to serotonin content in preoptic area. *Neurosci Lett* 415: 274-278, 2007.
66. Soares DD, Lima NRV, Coimbra CC, Marubayashi U. Evidence that tryptophan reduces mechanical efficiency and running performance in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 74: 357-362, 2003.
67. Soares DD, Lima NR, Coimbra CC, Marubayashi U. Intracerebroventricular tryptophan increases heating and heat storage rate in exercising rats. *Pharmacol Biochem Behav* 78: 255-261, 2004.
68. Sonne B, Galbo H. Simultaneous determinations of metabolic and hormonal responses, heart rate, temperature and oxygen uptake in running rats. *Acta Physiol Scand* 109: 201-209, 1980.
69. Taira AC. Muscarinic receptor subtype involvement in brain cholinergic stimulation by intracerebroventricular neostigmine in sinoaortic denervated rats. *Gen Pharmac* 31: 583-588, 1998.

70. Waki H, Kasparov S, Katahira K, Shimizu T, Murphy D, Paton JF. Dynamic exercise attenuates spontaneous baroreceptor reflex sensitivity in conscious rats. *Exp Physiol* 88: 517-26, 2003.

71. Waldrop TG, Eldridge FL, Iwamoto GA e Mitchell JH. Central neural control of respiration and circulation during exercise. In *Handbook of Physiology, section 12, Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems*, ed Rowell LB e Shepherd JT, chap 9: 333-380. Oxford University Press, New York.

72. Walters TJ, Ryan KL, Tate LM, Mason PA. Exercise in the heat is limited by a critical internal temperature. *J Appl Physiol* 89: 799-806, 2000.

73. Wanner SP. O exercício físico induz ajustes termorregulatórios e cardiovasculares que são mediados pela neurotransmissão colinérgica dos núcleos ventromediais hipotâmicos. *Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Educação Física da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Educação Física*, 2006.

74. Wanner SP, Guimarães JB, Rodrigues LOC, Marubayashi U, Coimbra CC & Lima NRV. Cholinergic muscarinic receptors in the ventromedial hypothalamic nucleus facilitate tail heat loss during physical exercise. *Brain Res Bull* 73: 28-33, 2007.

75. Willete RN, Punnen S, Krieger JA e Sapru HN. Cardiovascular control by cholinergic mechanisms in the rostral ventrolateral medulla. *The Journal of Pharmacology and Experimental therapeutics* 231: 457-463, 1984.

76. Williamson JW, Fadel PJ, Mitchell JH. New insights into central cardiovascular control during exercise in humans: a central command update. *Exp Physiol* 91: 51-58, Review, 2006.

77. Wilson NC, Gisolfi CV, Farber J & Hinrichs DK (1978). Colonic and tail skin temperature response of the rat at selected running speeds. *J Appl Physiol* 44: 571-575, 1978.

78. Zhang D, Ando M, Yamasaki F, Sato T. Carotid-sinus baroreflex modulation of core and skin temperatures in rats: An open-loop approach. *Jpn J Physiol* 53: 461-466, 2003.